

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1903-1904. — N° 13.

Travail du Laboratoire d'Anatomie générale et d'Histologie
de l'Université de Lyon.

ÉTUDE
SUR
L'ÉLIMINATION PAR LE REIN NORMAL
DES MATIÈRES COLORANTES
ÉTRANGÈRES A L'ORGANISME

Déductions qu'on en peut tirer au sujet de l'histophysiologie de la sécrétion urinaire.

THÈSE
PRÉSENTÉE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Et soutenue publiquement le 26 novembre 1903
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE
PAR
Albert POLICARD

LICENCIÉ ÈS SCIENCES NATURELLES
ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
MONITEUR DES TRAVAUX PRATIQUES D'ANATOMIE GÉNÉRALE

Né à Paris, le 15 janvier 1884



LYON, IMPRIMERIE R. SCHNEIDER

Quai de l'Hôpital, 9.

ÉTUDE
SUR
L'ÉLIMINATION PAR LE REIN NORMAL
DES MATIÈRES COLORANTES
ÉTRANGÈRES A L'ORGANISME



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553627_0056

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1903-1904. — N° 13.

Travail du Laboratoire d'Anatomie générale et d'Histologie
de l'Université de Lyon.

ÉTUDE
SUR
L'ÉLIMINATION PAR LE REIN NORMAL
DES MATIÈRES COLORANTES

ÉTRANGÈRES A L'ORGANISME

Déductions qu'on en peut tirer au sujet de l'histophysiologie de la sécrétion urinaire.

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 26 novembre 1903

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

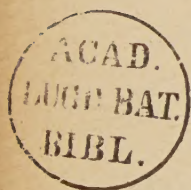
Albert POLICARD

LICENCIÉ ÈS SCIENCES NATURELLES

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

MONITEUR DES TRAVAUX PRATIQUES D'ANATOMIE GÉNÉRALE

Né à Paris, le 15 janvier 1881



LYON, IMPRIMERIE R. SCHNEIDER

Quai de l'Hôpital, 9.

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET.	DOYEN.
LACASSAGNE	ASSESEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.	}	MM. LEPINE.
Cliniques chirurgicales		BONDET.
Clinique obstétricale et Accouchements.		BARD.
Clinique ophtalmologique		PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		JABOULAY.
Clinique des maladies mentales.		X.
Clinique des maladies des enfants.		GAYET.
Physique médicale		GAILLETON.
Chimie médicale et pharmaceutique.		PIERRET.
Chimie organique et Toxicologie		WEILL.
Matière médicale et Botanique		MONOYER.
Parasitologie.		HUGOUNENQ.
Anatomie		CAZENEUVE.
Anatomie générale et Histologie.		BEAUVISAGE.
Physiologie		LORTET.
Pathologie interne.		TESTUT.
Pathologie externe		RENAUT.
Pathologie et Thérapeutique générales.		MORAT.
Anatomie pathologique		TEISSIER.
Médecine opératoire		AUGAGNEUR.
Médecine expérimentale et comparée.		MAYET.
Médecine légale		TRIPPIER.
Hygiène.		POLLOSSON (M.).
Thérapeutique		ARLOING.
Pharmacologie		LACASSAGNE.
		COURMONT (J.).
		SOULIER.
		FLORENCE.

PROFESSEUR ADJOINT

Physiologie, cours complémentaire M. DOYON,

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes.	MM. POLLOSSON (A.), agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale.	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Accouchements.	FABRE, —
Matière médicale	MOREAU, —
Anatomie topographique.	DURAND, —

AGRÉGÉS

MM. ROUX.	MM. SIRAUD.	MM. BÉRARD.	MM. VILLARD.
COLLET.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND.	CHATIN.	CAUSSE, ch...
VALLAS.			

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. RENAUT, Président ; MORAT, Assesseur ;
MM. DOYON, Professeur adjoint, et REGAUD, Agrégé.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

AVANT-PROPOS

Ce présent mémoire fait partie d'un plan étendu de recherches, sur la structure et l'histophysiologie du tube urinaire des vertébrés, que, de concert avec M. le professeur agrégé CL. REGAUD, nous poursuivons dans le laboratoire d'histologie de l'Université de Lyon.

M. le professeur J. RENAUT fut pour nous le meilleur des maîtres. Nous avons eu le bonheur de travailler trois ans sous sa direction et d'apprendre, à ses côtés, à aimer l'anatomie générale. Nous lui en témoignons notre sincère reconnaissance.

Nous remercions M. le professeur A. GIARD, membre de l'Institut, de l'accueil toujours si aimable que nous avons reçu de lui, à la Sorbonne comme au laboratoire de biologie maritime de Wimereux. Nous sommes fier de nous ranger parmi ses élèves.

Si ce travail a pu être commencé et mené à bonne fin, c'est grâce aux conseils de tous les instants de celui qui pour nous fut un maître et un ami, M. CL. REGAUD, professeur agrégé. Nous avons eu l'honneur d'être souvent son collaborateur ; sous nos deux noms ont été publiés un certain nombre de recherches histologiques sur le rein. Nous ne voulons pas que nos deux noms soient maintenant séparés. Qu'il nous permette donc de lui dédier ce travail.

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION

SOMMAIRE: Exposé du sujet. — Questions préjudicielles: 1° Y a-t-il similitude, ou seulement analogie plus ou moins grossière, entre les matières colorantes et les matériaux de l'urine, dans leur façon de se comporter pendant leur passage à travers le rein? — 2° Comment les matières colorantes se comportent-elles vis-à-vis des cellules vivantes, en général, et de la cellule rénale, en particulier. — Rappel des connaissances actuelles sur la structure des cellules du tube contourné.

Le rein élimine non seulement les produits de désassimilation, mais aussi un certain nombre de matières étrangères introduites dans l'organisme. Si ces dernières possèdent des propriétés qui permettent de les retrouver dans l'urine, on pourra en sérier l'élimination, et par cela même étudier la chronologie de cette élimination. Si, en outre, on peut les déceler sur les préparations histologiques, après les avoir fixées en même temps que le tissu rénal, on pourra, non seulement savoir en quel point du rein se fait leur élimination, mais encore étudier les processus histophysiologiques de leur passage dans le rein et de leur exode au dehors. Diverses substances (par exemple l'iodure de potassium et le bleu de méthylène) ont été utilisées dans le but d'étudier la chronologie de leur excrétion dans l'urine, et on a tiré de cette étude certaines déductions au sujet du fonctionnement du rein.

Mais seules les matières colorantes pouvant être insolubilisées brusquement à l'état de précipités colorés ont pu, jusqu'à présent, être saisies en place et par cela même rendre visibles et situer certaines phases du processus d'élimination qui leur est propre.

Les premiers auteurs, qui utilisèrent les matières colorantes pour l'étude du rein, le firent dans un but exclusivement anatomique. Les canalicules urinaires étant extrêmement difficiles à injecter par l'uretère, ils essayèrent de les remplir par les glomérules. Pour ce faire, CHRZONSCZEWSKI (1863) employa le carmin ammoniacal, qui est éliminé par les glomérules et remplit ensuite le tube urinaire. En 1874, parut le mémoire de R. HEIDENHAIN mémoire qui marque presque une date dans l'histoire de l'histologie, car il représente un des premiers travaux d'histophysiologie expérimentale. R. HEIDENHAIN utilisait pour la première fois une matière colorante, l'indigosulfate de soude, pour élucider certains points de l'histophysiologie de la sécrétion urinaire. Le retentissement des travaux de R. HEIDENHAIN provoqua l'apparition d'un grand nombre de mémoires sur l'élimination des matières colorantes par le rein. Nous nous sommes proposé l'étude analytique de ces travaux et l'exposé de leurs résultats, ainsi qu'une contribution personnelle à l'avancement de la question.

En 1897, ACHARD et CASTAIGNE partant d'un point de départ bien différent de celui de R. HEIDENHAIN et de ses imitateurs, employèrent le bleu de méthylène pour étudier la *perméabilité rénale* et en déterminer le degré. Ils furent suivis en cette voie par une foule d'auteurs. Nous ne nous serions pas occupé de cette dernière question, si

elle n'était rentrée bientôt dans le domaine de l'histophysiologie ; on ne se contenta pas en effet de savoir, si, une fois introduit dans l'organisme, le bleu passait ; on voulut savoir *comment* et *par où*.

Nous nous proposons d'abord d'étudier une par une les couleurs employées ; nous synthétiserons ensuite les résultats obtenus, et nous chercherons enfin à dégager les principales conclusions qu'on peut déduire des faits observés. Ce mode d'exposition nous a paru d'autant plus rationnel, que chaque matière colorante semble se comporter, dans son passage à travers le rein, d'une manière qui lui est propre. Mais avant de pénétrer dans le détail des expériences, nous devons tout d'abord poser, puis examiner diverses questions préjudicielles.

Des résultats obtenus en ce qui concerne l'élimination des matières colorantes, a-t-on le droit de tirer des conclusions fermes relatives à l'élimination des matières constituantes de l'urine ? En un mot, *y a-t-il similitude ou seulement analogie plus ou moins grossière entre les matières colorantes et les matériaux de l'urine, dans leur façon de se comporter pendant leur passage à travers le rein ?* Car ceci est la base de la méthode : il convient que cette base soit avant tout discutée.

R. HEIDENHAIN s'était parfaitement rendu compte qu'elle n'était pas inébranlable. Certains auteurs semblent maintenant ignorer que ce savant éminent s'est fait à lui-même des objections. Ils ont donc tort de lui reprocher, d'une façon parfois quelque peu amère, d'être parti d'un point de départ mal fondé. Tels sont, par exemple, VON WITTICH (1875) et SOBERIANSKY (1895). Il est certain que nous ne sommes pas en état d'affirmer la

similitude des processus d'excrétion d'une matière colorante et d'une substance normale de l'urine. En effet, comme le dit judicieusement LÉPINE (1898) : « Il semble que chaque substance, y compris l'eau elle-même, possède son coefficient propre de passage et qu'en conséquence, on ne puisse rigoureusement conclure de l'une à l'autre » Et nous ne pouvons pas affirmer que telle ou telle matière colorante est éliminée exactement de la même manière que l'urée, les phosphates urinaires, etc. On ne peut comparer que des phénomènes connus ; or nous ne connaissons pas encore *directement* le mécanisme de l'élimination d'une seule même de ces substances. Mais nous savons toutefois que le passage de telle couleur (employée dans des conditions déterminées par l'expérience préalable) n'est suivie d'aucune lésion rénale ; et nous pouvons, en conséquence, affirmer que ce même passage s'effectue dans le rein physiologiquement. En outre, nous sommes forcés d'admettre, *a priori*, que les phénomènes cellulaires normaux qui entrent en jeu, lors de l'élimination des substances étrangères ou non à l'urine, sont toujours sinon exactement, du moins sensiblement et dans leur sens général, les mêmes. Etant donnée une cellule des *tubuli contorti* du rein, son protoplasma, son noyau, sa cuticule striée ne peuvent se comporter très différemment (à l'état physiologique bien entendu) à l'égard des matières colorantes inoffensives, qu'ils ne feraient par rapport aux matières urinaires inoffensives aussi pour la structure rénale, puisque physiologiquement elles doivent franchir le rein sans incident.

En résumé, il est certes impossible d'affirmer que telle matière colorante inoffensive est éliminée par le rein

d'une façon *absolument identique* à telle ou telle substance constituante de l'urine normale. Mais les phénomènes histophysiologiques qui se passent dans les deux cas sont certainement *très voisins*; l'étude plus aisément saisissable des uns n'est donc pas indifférente à la connaissance des autres.

Pour passer du sang dans la lumière des canalicules urinaires, les substances à éliminer doivent nécessairement pénétrer dans les cellules rénales, interposées entre le sang et le liquide de provenance glomérulaire. Nous sommes donc amenés à nous demander tout d'abord *comment se comportent les matières colorantes par rapport aux cellules vivantes en général.*

On sait depuis très longtemps que certaines couleurs d'aniline, comme le bleu de méthylène, le rouge neutre, le violet de gentiane, etc., employées en solutions extrêmement diluées dans un sérum isotonique, sont capables de colorer les éléments cellulaires vivants sans porter atteinte à leur vitalité. D'autres couleurs, au contraire, n'entrent pas dans les cellules vivantes. On donne aux premiers le nom de *matières colorantes vitales*. On peut faire agir ces matières colorantes de deux façons différentes. Lorsqu'on les introduit dans l'organisme d'un animal vivant, soit par injection sous-cutanée ou intravasculaire, soit en les faisant absorber par le tube digestif, on produit une coloration de certaines cellules, coloration qu'on peut, avec ARNOLD, qualifier de *vitale*. — On peut, en second lieu, porter la matière colorante au contact de cellules encore vivantes, mais séparées de l'organisme; c'est ce qu'on peut appeler coloration *post-vitale* (supravitale Færbung, d'ARNOLD). Il y a lieu de

faire remarquer que l'un et l'autre mode d'introduction de la matière colorante dans les cellules ne sont pas exactement équivalents. Après avoir introduit la matière colorante non toxique dans l'organisme d'un mammifère vivant, celui-ci est obligé de l'éliminer; et c'est dans ce cas surtout que l'on peut assimiler les processus histophysiologiques de cette élimination, rendus visibles dans le rein, aux processus normaux. Au contraire, une substance douée d'un pouvoir tinctorial, portée directement au contact d'une cellule encore vivante, mais séparée de l'organisme, ne peut être employée qu'à titre de simple colorant. Les déductions qu'on peut tirer de leur action dans ce cas ne doivent donc pas être appliquées « ipso facto » aux processus histophysiologiques d'excrétion.

Quoi qu'il en soit, un grand nombre de faits, d'ailleurs contradictoires en apparence, ont été accumulés sur ce double sujet. GALEOTTI (1894), dans une revue critique, essaya de les rassembler et d'en tirer quelques lois générales. Il conclut que les parties vraiment vivantes de la cellule (noyau et protoplasma) ne se colorent jamais tant que persiste la survie cellulaire. Seuls fixent la couleur les « grains de sécrétion » et « toutes les autres formations qui ne prennent pas une part *active* aux fonctions de la cellule. » Quand le protoplasma se colore, c'est que sa vitalité est amoindrie, sinon éteinte.

Mais, cela étant admis et d'ailleurs aujourd'hui connu de tous, pourquoi certaines couleurs pénètrent-elles dans les cellules, alors que d'autres n'y pénètrent pas ?

Un botaniste suisse, OVERTON (1900) a essayé de résoudre cette importante question ; il a émis une théorie fort ingénieuse sur le mécanisme de la pénétration dans les

cellules de diverses matières (parmi lesquelles les matières colorantes). OVERTON étudia l'action d'un grand nombre de substances sur des cellules animales et surtout végétales variées. Ces substances peuvent se ranger en deux catégories : celles qui pénètrent dans les cellules vivantes et celles qui n'y pénètrent pas. Quelques-unes ont une situation intermédiaire : ce sont les substances qui pénètrent très lentement dans les éléments vivants. Parmi les matières colorantes, dans le premier groupe rentrent à peu près toutes les *couleurs basiques d'aniline* (violet de gentiane, bleu de toluidine, bleu de méthylène, thionine, safranine, rouge neutre, etc.); dans le deuxième groupe rentrent la plupart des *colorants sulfacides* (fuchsine acide, rouge Congo, rouge Bordeaux, carmin d'indigo) ainsi que l'éosine, les sels de carmin, etc. Cette classification, toute expérimentale, étant faite, OVERTON étudia ensuite les propriétés communes aux substances d'un même groupe. Il n'en trouva qu'une seule qui fût constante, et qui serait leur façon de se comporter à l'égard des produits dits *lipoïdes* (graisses, acides gras, cholestérine, lécithine, lanoline, etc.). Toutes les substances vitales appartenant au premier groupe sont solubles dans les lipoïdes; toutes les substances du deuxième groupe y sont insolubles. OVERTON établit donc un *rapport entre la solubilité d'un corps dans les lipoïdes et son pouvoir de pénétration dans les cellules vivantes*. Et pour expliquer ce dernier phénomène, il admet que chaque élément cellulaire est enveloppé par une mince pellicule de protoplasma imprégné de substances lipoïdes (mélange de cholestérine et de lécithine). N'entreront donc, — en cette conception — dans les cel-

lules que les substances solubles dans cette membrane plasmaticque. En d'autres termes, la pénétration d'une substance dépendra de sa « solubilité élective » dans la zone marginale lipoïde de la cellule abordée.

Il ne semble pas que les faits très intéressants découverts par OVERTON puissent être tous mis en doute, mais sa conception de la membrane péricellulaire plasmaticque imprégnée de lipoïdes est toute hypothétique; et sa théorie *purement physique* du rôle des lipoïdes dans l'absorption intracellulaire, quelque ingénieuse et séduisante qu'elle soit, est bien loin d'être démontrée.

GURWITSCH (1902) vient d'ailleurs d'appliquer la théorie d'OVERTON à l'étude de la sécrétion rénale. Mais avant d'exposer les idées de cet auteur, nous devons brièvement rappeler les principaux caractères morphologiques des cellules épithéliales des tubuli contorti du rein. Ce sont d'ailleurs les seules dont nous nous occuperons, à l'exclusion des autres segments du canalicule urinaire, ceci parce que les données histophysiologiques précises que nous possédons ne se rapportent guère qu'au tubulus contortus ou segment à bordure striée. Les caractères morphologiques de ces cellules varient beaucoup suivant les espèces cellulaires considérées. On peut cependant décrire un type mixte, schématique de la cellule rénale à bordure en brosse.

Cette cellule nous présente à considérer : un *corps protoplasmique*, un *noyau* et une cuticule particulière, dite « *bordure en brosse* ».

Le protoplasma comme l'a vu le premier R. HEIDENHAIN présente dans la région infranucléaire, une striation parallèle au grand axe de la cellule. La structure et la

signification de cette striation ont donné lieu à de nombreuses controverses, que nous laisserons ici complètement de côté; nous nous contenterons de rappeler l'opinion classique de R. HEIDENHAIN qui attribue cette striation à la présence de *bâtonnets cytoplasmiques* parallèles entre eux. Ces bâtonnets ou plutôt les séries de grains qui les dessinent, jouent certainement un rôle, d'ailleurs mal connu, dans l'absorption intracellulaire et l'élaboration du produit de sécrétion.

Le protoplasma présente à considérer des *enclaves* de taille, d'aspect et de situation variables suivant les espèces animales envisagées. Chez tous les animaux, on peut cependant distinguer parmi elles trois variétés : 1^o des *grains de ségrégation*, fortement colorables par les couleurs basiques, siégeant surtout dans la région supranucléaire et variant d'aspect morphologique et de chromatocité suivant les stades urinaires; — 2^o des *gouttelettes de graisse* colorables par l'acide osmique et siégeant le plus souvent au dessous du noyau; — 3^o des *vacuoles*, colorables par certains réactifs (hématoxyline cuprique ou ferrique) siégeant comme les grains de graisse dans la région infranucléaire; ces vacuoles renferment une substance voisine des graisses (REGAUD et POLICARD. 1902 et 1903.)

Le *noyau* joue un rôle certainement important, quoique mal précisé, dans les phénomènes sécrétoires.

La *bordure en brosse*, ou mieux *cuticule striée*, est un organe constant dans les cellules des *Tubuli Contorti* et qui existe chez tous les Vertébrés. C'est un plateau, c'est-à-dire une mince membrane différenciée qui revêt la surface libre de la cellule du côté de la lumière du

tube. Sa structure fine et son rôle sont encore insuffisamment connus. Il est probable que la bordure subit des modifications de structure suivant l'état de la sécrétion : un certain nombre de raisons semblent en tous cas devoir la faire considérer comme un *appareil dialyseur* (1).

Il était nécessaire de donner cette description semi-schématique et cursive, mais suffisante cependant, de la cellule à bordure striée, avant d'entreprendre l'exposé des travaux de GURWITSCH (2), sans quoi ceux-ci risqueraient d'être mal compris.

Cet auteur commence par montrer que les cellules des tubuli font exception à la règle d'OVERTON; elles se laissent en effet pénétrer par un certain nombre de substances qui ne pénètrent pas dans les autres cellules vivantes : tels sont l'acide urique et l'indigosulfate de soude. De plus, les cellules des tubuli contorti accumulent les substances, vitales ou non, en grandes quantités, dans leur protoplasma. Ce phénomène de la concentration (3), dans la cellule, de matériaux étrangers dissous résulterait, d'après GURWITSCH, d'une propriété spéciale, non point du protoplasma, mais des vacuoles que renferme celui-ci. Les vacuoles à contenu lipoïde contiennent des liquides qui, d'après OVERTON, jouissent de pouvoirs dissolvants considérables pour les substances vitales. Ces substances, contenues en quantités infinitésimales dans le sang et les

(1) J. RENAUT sur quelques phénomènes intimes de la nutrition et de la sécrétion. *Bull. gén. de Thérap.*, 1903, p. 208.

REGAUD et POLICARD, 1903.

(2) Pour plus amples détails, nous renvoyons le lecteur à une revue générale de la question que nous ferons paraître prochainement.

(3) Ce phénomène n'est pas spécial à la cellule rénale. Toutes les cellules glandulaires le présentent à un certain degré.

plasmas qui baignent les cellules, diffusent à travers le protoplasma et abordent la paroi membranulaire des vacuoles, consistant en une pellicule de protoplasma provisoirement différencié. Là, elles se comportent comme fait toute substance qui se trouve au contact de deux dissolvants : l'un dans lequel cette substance est peu soluble (plasma ambiant); l'autre dans lequel elle l'est beaucoup (contenu des vacuoles). Elles se partagent entre les deux dissolvants proportionnellement aux coefficients de solubilité; elles s'accumulent dans les vacuoles jusqu'à ce que l'équilibre correspondant à ces mêmes coefficients soit atteint. Ainsi s'opère l'accumulation de l'iode dans du chloroforme agité avec de l'eau iodée.

Dans la conception de GURWITSCH, les vacuoles ne sont pas des *produits de sécrétion* destinés à être éliminés; ce sont des « organites » permanents de la cellule. Au moment de l'élimination, leur contenu ne passerait pas dans l'urine, mais un partage se ferait entre le dissolvant qui reste et les substances dissoutes qui partent.

Telle est la théorie de Gurwitsch. A propos du bleu de toluidine, couleur que cet auteur a surtout employée dans ses expériences, nous examinerons les faits qui lui servent de base et nous critiquerons les déductions que le même auteur a tirées de ces faits.

Examinons maintenant en détail les résultats obtenus par les auteurs avec les diverses matières colorantes, en ce qui concerne le mode de passage de celles-ci à travers le rein.

CHAPITRE II

ÉLIMINATION DE L'INDIGOSULFATE DE SOUDE OU CARMIN D'INDIGO

SOMMAIRE : Manières dont l'indigo se comporte dans l'organisme ; leucodérivés. Expériences d'HEIDENHAIN : technique ; faits observés ; déductions physiologiques. — Infirmations et confirmations des résultats d'Heidenhain : NUSSEBAUM, SOBERIANSKY. Résumé.

Le carmin d'indigo (1) est un sel de sodium d'un dérivé disulfonique de l'*indigotine*, dérivé lui-même de l'*intol*. Il est soluble dans l'eau et dans l'alcool hydraté, à peu près insoluble dans l'alcool absolu. Une solution d'un sel neutre (NaCl, KCl par ex.), le précipite de ses solutions et pourra ainsi le fixer en marquant sa place au sein d'un tissu.

Comment se comporte l'indigo à l'égard des cellules vivantes ? D'après OVERTON, c'est là une couleur non vitale. Un certain nombre de faits semblent prouver le contraire. CHRZONSZCZEWSKI, dans une expérience bien connue, a montré que le carmin d'indigo est absorbé par la cellule hépatique, puis éliminé dans les capillaires biliaires, qu'il met ainsi en évidence en les injectant. R. KRAUSE (1901) démontre que les cellules épithéliales

(1) Dans le cours de ce chapitre nous emploierons indifféremment les noms de *carmin d'indigo*, *d'indigo* pour désigner une seule et même couleur, l'*indigosulfate de soude*.

vivantes des canaux salivaires excréteurs et des croissants de Gianuzzi de la glande sous-maxillaire, excrètent le carmin d'indigo.

Dans l'organisme, où on l'a introduit, le carmin d'indigo ne conserve pas sa couleur bleue; au contact des cellules vivantes, il se réduit en un dérivé incolore; au niveau du rein, ce leucodérivé est transformé en bleu par oxydation. Un phénomène d'oxydation de ce *leucodérivé* s'ajoute donc au phénomène de l'élimination. Cette complication rend plus difficile l'étude de l'élimination par le rein de cette matière colorante; au point de vue qui nous occupe, l'indigo est un objet d'étude mal choisi.

Le premier auteur qui, à notre connaissance, ait étudié l'élimination de l'indigo par le rein, fut R. HEIDENHAIN (1874). Cet auteur cherchait à préciser le point du rein où se faisait le passage des éléments de l'urine. La recherche de la localisation dans le rein de l'urée, de l'acide urique, des phosphates, ne lui ayant donné aucun résultat, il chercha à préciser celle de l'indigosulfate de soude injecté dans le sang.

Sa technique est la suivante; injection dans les veines de l'animal (le chien en général) de la solution saturée à froid de carmin d'indigo; on en injecte jusqu'à ce que l'on voit bleuir la conjonctive; 25 à 50 cc. sont nécessaires pour un lapin; 50 à 75 cc. pour un chien. Lorsque l'urine est devenue bleue, on sacrifie l'animal par saignée. La couleur est précipitée, au point précis du rein où elle se trouve, par une injection artérielle de solution concentrée de chlorure de potassium. Le rein est durci dans l'alcool absolu. Les coupes sont examinées soit dans le baume du Canada, soit dans de la glycérine saturée de chlorure de potassium, pour que l'indigo ne se dissolve pas.

Voici les résultats qu'obtint HEIDENHAIN :

1^o Le rein est un organe spécifique pour l'élimination de l'indigo.

En effet, après injection abondante d'indigo dans le sang, tous les tissus se colorent en bleu clair, l'urine en bleu foncé et le rein en un beau noir bleu. C'est donc dans le rein que le carmin d'indigo, contenu dans le sang à l'état de faible dilution, vient se collecter et se concentrer.

2^o Les glomérules de Malpighi ne prennent aucune part à l'élimination de l'indigo.

Sur les coupes, les glomérules paraissent complètement incolores. Pourquoi ? Est-ce que le chlorure de potassium injecté aurait pu filtrer activement par le bouquet glomérulaire, effectuer une action de lavage rapide et enlever ainsi la couleur qui se serait déposée dans la capsule de Malpighi ? Non, car si on ne fait pas cette injection fixatrice de chlorure de potassium, mais qu'on immerge dans cette solution un fragment de rein, pris immédiatement après la mort, on voit qu'à la surface du fragment, là où l'imbibition a été suffisamment rapide, les glomérules sont tous incolores. On doit donc admettre que, si les glomérules sont incolores, c'est qu'ils ne prennent pas part à l'excrétion de l'indigo.

3^o Le passage du carmin d'indigo se fait à travers les canaux contournés.

Sur les coupes, tous les tubes contournés paraissent bleus. La coloration, cependant, varie un peu d'aspect dans les différents tubes ; à côté de tubes fortement bleuis, on en rencontre d'autres presque incolores. — Si l'intensité du bleuissement est proportionnelle à celle de la fonctionnalité, les canaux contournés semblent donc fonctionner indépendamment les uns des autres (1). — Dans chaque cellule la coloration bleue porte, tantôt d'une façon diffuse

(1) HEIDENHAIN a ainsi montré d'une façon indiscutable l'existence d'une alternance fonctionnelle entre les différents tubes urinaires.

sur tout le corps cellulaire, tantôt seulement sur le noyau ou sur les bâtonnets; d'autre fois, la lumière seule présente de l'indigo précipité. R. HEIDENHAIN insiste sur le fait que cette coloration est secondaire; les cellules du rein vivant sont incolores, car elles ont un haut pouvoir réducteur sur l'indigo. Soit par suite de l'exposition à l'air, soit par action du chlorure de potassium employé comme fixateur, le leucodérivé, qui est accumulé dans la cellule rénale, y est transformé derechef en indigo bleu.

Les branches larges des anses de Henle se comportent comme les tubes contournés.

4^o *Les canaux de Bellini et les branches grèles des anses de Henle ne prennent aucune part à l'excrétion de l'indigo. Ce sont des canaux vecteurs. Ils ne servent qu'à véhiculer la sécrétion déjà formée.*

En effet, sur les coupes, la substance et les irradiations médullaires apparaissent colorées intensément. Cette coloration est due à la présence d'indigo *dans la lumière des tubes*; mais les cellules épithéliales qui revêtent ceux-ci ne sont *jamais* colorées. Elles ne jouent donc aucun rôle dans l'élimination de l'indigo.

Dans un second mémoire paru la même année (1874), R. HEIDENHAIN, avec son élève NEISSER, complète les résultats du premier en instituant une série d'expériences devenues classiques. Il s'est ingénié à supprimer la filtration glomérulaire, en employant diverses méthodes :

1^o *Activité rénale après la section du bulbe.*

La section de la moelle cervicale (l'animal étant maintenu en vie par la respiration artificielle) détermine un abaissement énorme de la tension artérielle. Dans ces conditions, pas une goutte d'urine n'est sécrétée et cependant l'indigo, qu'on injecte dans le sang après cette opération, se retrouve seulement dans les tubes contournés et les branches larges de l'anse de Henle. Chez l'animal sacrifié au bout de dix minutes, les cellules épithéliales de ces

canaux sont colorées et la lumière renferme peu d'indigo ; au bout d'une heure, au contraire, les cellules sont redevenues incolores et la lumière apparaît remplie d'indigo.

Ces expériences sont très instructives, car elles mettent en évidence et situent : 1^o le *lieu précis de l'excrétion* de l'indigo, puisque, la filtration d'eau par les glomérules ayant été suspendue, aucun courant n'a pu entraîner vers les tubes contournés la couleur excrétée ; 2^o elles marquent *les temps de l'acte sécrétoire* ; stade de mise en charge (expériences de dix minutes de durée) : stade d'excrétion proprement dite (expériences de une heure de durée).

2^o *Activité rénale après la ligature de l'uretère.*

On supprime de cette façon la filtration au niveau du glomérule, par augmentation de la pression dans le canalicule urinaire, et égalisation au bout de peu de temps de celle-ci dans le glomérule et dans le tubule. Dans ces conditions, une heure après l'injection d'indigo, la substance corticale apparaissent à l'œil nu seule bleue ; au microscope on peut faire les mêmes observations que tout à l'heure : les glomérules sont incolores et les tubes contournés sont bleus. Le résultat de l'expérience concorde donc ici de tout point avec ceux fournis par les précédentes.

3^o *Suppression de la filtration aqueuse par destruction des glomérules en certains points du rein.*

Sur un lapin vivant, HEIDENHAIN découvre le rein et cautérise au nitrate d'argent certains points de sa surface, assez profondément pour qu'au moins 3 ou 4 rangées de corpuscules de Malpighi soient comprises dans l'eschave produite. — Deux jours après l'opération, on injecte dans les veines du carmin d'indigo. L'animal est sacrifié environ une heure après l'injection. Le rein soumis à la technique habituelle, présente un aspect frappant. Les

parties non cautérisées se comportent comme d'ordinaire dans ces conditions de technique: écorce faiblement, moëlle intensément colorées en bleu. Dans les régions du rein correspondant aux points cautérisés, la substance corticale seule est teintée, les pyramides demeurent parfaitement incolores. La cautérisation d'une zone de la périphérie du rein a donc eu pour résultat d'entraver la filtration aqueuse de ce département rénal, sans suspendre l'activité des éléments sécréteurs des tubes contournés; au niveau de cette région du rein, on peut faire les mêmes constatations que dans le cas des expériences précédentes. (1).

On voit que toute cette expérimentation ingénieuse aboutit à la confirmation pleine et entière de la théorie de BOWMANN. HEIDENHAIN avait ainsi porté un coup décisif à la théorie de LUDWIG. Ses contradicteurs furent nombreux et l'on peut dire que l'ensemble des travaux postérieurs à HEIDENHAIN n'est qu'une suite de confirmations et d'infirmités des résultats qu'il a obtenus.

VON WITTICH (1875) donne le résultat d'expériences faites à la suite de la publication du mémoire d'HEIDENHAIN. Il n'étudie le carmin d'indigo que d'une façon accessoire, ses études portant surtout sur l'élimination du carmin ammoniacal. Avec une technique à peu près identique à celle d'HEIDENHAIN il n'a jamais retrouvé l'indigosulfate de soude au niveau du glomérule. Au niveau des tubuli contorti au contraire, la matière colo-

(1) Nous ne pouvons pas nous empêcher de faire à cette expérience d'Heidenhain une objection sérieuse; il existe, chez les mammifères, une solidarité vasculaire étroite entre le glomérule et le tube; en interrompant la circulation glomérulaire, on interrompt « ipso facto » la circulation tubulaire d'une façon à peu près complète, car les anastomoses vasculaires entre lobules rénaux ne sont établies que par des capillaires.

rante se trouvait dans les cellules glandulaires. VON WITTICH apporte donc en somme une confirmation des résultats d'HEIDENHAIN, mais uniquement en ce qui concerne l'indigosulfate de soude, car nous verrons, dans le chapitre suivant, que les résultats obtenus avec le carmin ammoniacal sont, en apparence du moins, absolument différents.

Pour suivre l'ordre chronologique rigoureux nous devrions maintenant étudier le travail de M. NUSSBAUM (1878). Mais comme cet auteur a complété ses recherches quelques années plus tard, nous croyons plus logique d'exposer en bloc, un peu plus bas, les résultats qu'il a obtenus.

Quelques années plus tard, HENSCHEN (1879) et PAUTINSKI (1880) répétèrent les expériences d'HEIDENHAIN et en confirmèrent encore une fois les résultats. Dans les conditions où s'était placé cet auteur, les glomérules étaient incolores, les cellules des tubuli contorti colorées en bleu et la lumière de ces tubes remplie de masses d'indigo. Mais d'après eux, HENSCHEN et PAUTINSKI, on n'a pas plus le droit de conclure de ces faits en faveur d'une sécrétion par les cellules des tubuli, qu'en faveur d'une filtration de bleu par les glomérules suivie d'une résorption au niveau des tubes. Dans les conditions de l'expérience d'HEIDENHAIN, quand il s'écoule un certain temps entre la fin de l'injection et la fixation du bleu, disent-ils, celui-ci, activement éliminé par le glomérule, est rapidement entraîné hors de la capsule par le courant d'urine glomérulaire. Voilà pourquoi ces glomérules paraissent incolores. Pour démontrer l'hypothèse qu'ils avaient émise, PAUTINSKI et S. HENSCHEN essayèrent de saisir l'indigo

dans son passage à travers le glomérule ; pour ce faire, on pouvait :

— Ou bien, si on laissait un temps assez long s'écouler entre la fin de l'injection et la mort de l'animal, faire durer plus longtemps l'élimination de la couleur en en injectant de plus grandes quantités ; c'est le procédé de PAUTINSKI ;

— Ou bien, en injectant des quantités relativement minimales de bleu, tuer l'animal immédiatement après la fin de l'injection ; c'est le procédé de HENSCHEN.

PAUTINSKI injecta dans les veines d'un chien jusqu'à 1 500^{cc} de solution saturée d'indigo. Il vit alors la lumière des tubes et la capsule des glomérules remplies par un magma intensément coloré en bleu.

HENSCHEN injecte dans la veine jugulaire d'un lapin, sous une pression de 35^{cc} d'eau, environ 30^{cc} de solution saturée d'indigo ; l'injection dure environ 20 secondes ; immédiatement après, il injecte sous forte pression une solution saturée de Cl Na pour précipiter la couleur, puis il sacrifie l'animal, durcit le rein à l'alcool et fait des coupes qu'il monte au baume. Dans ces conditions, on trouve les anses vasculaires des glomérules colorées en bleu et de fines particules de couleur dans la capsule ; les tubuli sont incolores. Quand l'injection a duré plus longtemps (une à deux minutes pour 30^{cc}) ou que la couleur n'a pas été fixée immédiatement après la fin de l'injection, les anses glomérulaires et les capsules sont régulièrement incolores ; au niveau des tubuli contorti, la lumière est remplie de masses bleues et les cellules présentent une coloration de leur région interne, coloration qui pour l'auteur serait l'indice d'un *début de résorption* de la couleur.

Ces résultats seraient, pour PAUTINSKI et pour HENSCHEN, la preuve d'une filtration du bleu au niveau du glomérule, suivie de la résorption, dans les tubes contour-

nés, d'une partie de la couleur filtrée; ce serait donc là une confirmation de la théorie de LUDWIG.

GRUTZNER (1884) fait une longue critique des résultats de PAUTINSKI et de HENSCHEN.

A) Les expériences de PAUTINSKY ne prouvent rien parce qu'elles relèvent de conditions pathologiques. On ne peut considérer comme normal un animal auquel on a injecté une quantité de liquide coloré au moins égale, sinon supérieure, à la masse de son sang.

Les critiques de Grützner nous paraissent fort justes. Ce magma intensément coloré en bleu, que PAUTINSKI trouve dans la capsule du corpuscule de MALPIGHI, est probablement formé d'albumine plus ou moins colorée qui a filtré par le glomérule comme il arrive en particulier dans la néphrite dothiennentérique (Renaut).

B) GRUTZNER adresse les critiques suivantes à KENSCHEN.

Même en admettant comme démontrés les résultats de cet auteur, on n'a pas le droit d'en déduire une preuve de la théorie de LUDWIG. HENSCHEN avons-nous dit, a rencontré le bleu dans la capsule sous la forme de fins corpuscules. Or il se peut que l'indigo, contenu dans le sang au taux de 0,1 % environ, ait été précipité au contact de l'urine.

GRUTZNER étudie alors « in vitro » les conditions de précipitation des solutions d'indigosulfate de soude au contact de l'urine et il voit qu'une solution à 0,1 % précipite au contact de l'urine pure; une solution plus faible ne précipite pas; une solution de plus de 0,1 % précipite au contact d'une urine étendue d'eau. Puisque la solution d'indigo à 0,1 % qui, d'après HENSCHEN filtrerait par le glomérule, précipite dans la capsule, c'est donc que dans cette capsule, à l'entrée du tube urinaire, il y a de l'urine à peu près pure. Or ceci est absolument contraire à la théorie de Ludwig, qui admet qu'à l'entrée des tubes urinaires l'urine est extrêmement diluée.

Au surplus, les faits mêmes mis en avant par HENSCHEN ne paraissent pas fondés.

GRUTZNER, en effet, a répété les expériences de HENSCHEN : il conteste ses résultats, qu'il qualifie de pathologiques, et il contredit ses conclusions. Il n'a jamais réussi à voir les glomérules bleus et les tubes incolores, même quand il cherchait à altérer les glomérules par injection intravasculaire d'eau ou de solution de soude. Il a pu voir, au contraire, le précipité intracapsulaire décrit par HENSCHEN, quand il déterminait une stase veineuse dans le rein.

Les résultats obtenus par HENSCHEN sont donc pathologiques. Ils relèvent de troubles circulatoires par le mode d'injection de la couleur (injection extrêmement rapide sous une très forte pression).

En somme, ce qui pour nous ressort de toute cette discussion, c'est l'exactitude des faits découverts par HEIDENHAIN et l'impossibilité où se sont trouvés ses contradicteurs de déceler l'indigo dans le glomérule, en dehors de conditions pathologiques.

MARÈS (1885) étudie les différences de l'élimination de l'indigo dans les divers groupes de vertébrés.

Deux organes peuvent débarrasser l'organisme de l'indigo introduit : le rein et le foie. Chez les mammifères, le rein joue le principal rôle et le foie ne fonctionne que lorsque le rein devient insuffisant à remplir sa tâche. Chez les amphibiens et chez les oiseaux, c'est l'inverse : le foie serait l'organe principal d'élimination du bleu. D'autre part, les bâtonnets d'HEIDENHAIN ne sont bien développés que chez les mammifères. MARÈS établit entre ces deux faits une relation de cause à effet : le rein des mammifères élimine bien l'indigo parce qu'il possède des bâtonnets ; celui des amphibiens et des oiseaux, n'en possédant pas de bien développés, n'excrète presque pas l'indigo. Comme (toujours d'après Marès) l'indigo se comporte comme une substance urinaire, c'est aux

bâtonnets qu'est dévolue la propriété d'excréter les substances urinaires.

Tout ceci nous paraît un peu trop simple comme raisonnement; de plus, les prémisses sont-elles bien fondées? Toutes ces expériences faites jusqu'ici ont montré que, (chez les amphibicus du moins), le rein éliminait l'indigo aussi bien que le foie. D'autre part, les bâtonnets existent chez les amphibiens tout comme chez les mammifères. En somme, MARÈS n'a apporté absolument rien de nouveau au sujet qui nous occupe, sinon une erreur d'observation quant aux bâtonnets de HEIDENHAIN.

Au contraire M. NUSSBAUM (1878 et 1886), apporte une importante contribution à l'étude de la question. Son grand mérite est d'avoir utilisé la disposition anatomique du rein de la grenouille pour montrer les rôles respectifs des glomérules et des tubuli contorti.

Chez les batraciens et les reptiles, le sang arrive au rein par deux ordres de vaisseaux : 1° L'*artère rénale*, branche de l'aorte, qui irrigue seulement les glomérules; 2° La *veine porte rénale*, recevant le sang de l'extrémité postérieure du corps, et qui irrigue les tubuli contorti. — Chez ces vertébrés n'existe donc point cette étroite solidarité vasculaire entre le glomérule et les tubuli que l'on rencontre chez les mammifères. On conçoit facilement l'importance de cette disposition anatomique; par des ligatures sur l'un ou l'autre vaisseau, on supprimera l'irrigation sanguine, et ainsi le fonctionnement, soit du glomérule, soit des tubuli (1). NUSSBAUM n'a jamais pratiqué que la ligature de l'artère rénale;

(1) ADAMI (1887) a montré que cette disposition vasculaire n'était bien typique que pour les systèmes glomérulo-tubulaires de la partie médiane du rein. Mais ses critiques ne touchent en rien aux résultats de NUSSBAUM. (ADAMI, 1887, *J. of Physiol.* VI.)

dans ces conditions, il a noté tout d'abord que l'indigosulfate de soude passe dans l'urine; il en conclut que les glomérules ne jouent aucun rôle dans l'élimination de cette matière colorante.

NUSSBAUM, d'autre part, a répété les expériences d'HEIDENHAIN sur divers mammifères. Il a toujours constaté, dans les reins normaux, l'absence d'indigo au niveau des glomérules et sa présence constante dans la lumière des canalicules. Les cellules des tubuli contorti des mammifères seraient colorées en bleu, ce qui n'aurait jamais lieu chez les amphibiens, les reptiles et les poissons; toujours, chez ces derniers animaux, les cellules sont incolores, bien que la lumière des tubuli renferme de la couleur. Cette différence est justiciable de plusieurs explications. Avec NUSSBAUM, on peut tout d'abord songer à des différences de chimisme entre les mammifères et les animaux à sang froid, différences telles que l'oxydation du leucodérivé en indigo se produirait plus facilement chez les mammifères. On peut aussi penser que, les cellules d'un animal à sang chaud s'altérant beaucoup plus vite à la température ordinaire, dans une dissociation, que celles d'un animal à sang froid, il y a eu coloration *post mortem* des cellules chez les mammifères parce que, très vite, celles-ci se sont altérées.

Immédiatement après NUSSBAUM, nous citerons HALSEY (1901) qui a répété les expériences de Nussbaum. Quand, chez la grenouille, l'artère rénale étant liée, on injecte une solution d'indigo dans le sac lymphatique dorsal, l'urine devient bleue; l'indigo est donc éliminé au niveau des tubes.

Les travaux de M. NUSSBAUM et de HALSEY ont montré d'une façon indiscutable que l'indigo s'éliminait bien par le tube contourné. Mais pour être certains que l'indigo s'élimine *exclusivement* par ce tube contourné, ils auraient dû pratiquer, chez la grenouille, la ligature de la veine porte rénale, et voir si l'indigo passait alors dans

l'urine. Nous verrons tout à l'heure que c'est GURWITSCH qui, le premier, réalisa cette expérience.

BLUMBERG (1889), après avoir répété les expériences et vérifié les résultats de R. HEIDENHAIN établit à travers le rein une circulation artificielle de sang chargé d'indigo. De son propre aveu, sa technique est imparfaite, car il n'obtint qu'une coloration diffuse du parenchyme. Très sagement du reste, il ne voulut rien conclure de ses expériences.

Au contraire JACOBY et VON SOBERIANSKY (1891), par l'emploi dans ces circulations artificielles d'un appareil spécial, auraient obtenus de meilleurs résultats. Ils n'auraient jamais observé de coloration diffuse du parenchyme; au contraire ils auraient trouvé au niveau du glomérule une coloration des noyaux, au niveau des tubuli des précipités d'indigo dans la lumière.

En somme ces trois auteurs n'ont obtenu, par l'emploi des circulations artificielles, aucun résultat nouveau important, ni surtout décisif.

W. VON SOBERIANSKY (1895) apporte à son tour une contribution importante à l'étude de l'élimination de l'indigo par le rein. C'est un adversaire d'HEIDENHAIN. Il commence par vérifier pleinement les résultats de cet auteur, mais fait une sévère critique des déductions qu'il en a tirées.

POUR SOBERIANSKY comme pour PAUTINSKY et S. HENSCHEN, l'absence d'indigo dans le glomérule n'indique pas du tout que cette couleur n'ait pas été éliminée à son niveau. Trois hypo-

thèses, aussi plausibles les unes que les autres, seraient capables d'expliquer ce fait :

1° L'hypothèse d'HEIDENHAIN : élimination exclusive de l'indigo au niveau du tube contourné ;

2° L'hypothèse de PAUTINSKY et de HENSCHEN : filtration de l'indigo au niveau du glomérule, suivie d'un entraînement rapide par le courant urinaire ;

3° Filtration au niveau du glomérule de l'indigo à l'état de leuco-dérivé ; résorption et oxydation de celui-ci au niveau des cellules des tubuli contorti. SOBERIANSKY est partisan de cette dernière hypothèse et essaie de la vérifier.

Il commence par répéter les expériences de PAUTINSKY et de HENSCHEN ; il obtient les mêmes résultats et refuse de les considérer comme résultant de conditions pathologiques, à l'encontre de ce qu'en pense GRUTZNER. Nous avons exprimé plus haut notre opinion sur ce point : elle est motivée et ferme ; nous n'avons donc pas y revenir ici.

SOBERIANSKY étudie ensuite l'élimination de l'indigo chez les animaux en état de diurèse caféinique. Pour lui, la caféine aurait pour propriété de paralyser le pouvoir de résorption des cellules des tubuli (1) ; d'où son action diurétique bien connue. Dans les conditions où l'auteur s'est placé, les cellules épithéliales des tubuli contorti étaient incolores, même après un assez long temps, ce qui, à ses yeux, démontre qu'elles n'ont pas résorbé l'indigo. Au contraire, chez un animal témoin, elles auraient été intensément colorées parce que — pense également l'auteur — la résorption du bleu éliminé par le glomérule aurait été, en ce cas, complète.

En réalité, de telles expériences ne prouvent rien en faveur de la théorie de Ludwig ; la décoloration des tubuli peut parfaitement s'expliquer par une *suractivité de la*

(1) SOBERIANSKY, dans la partie pharmacodynamique de son travail, essaie de démontrer cette proposition. Ses arguments sont du reste peu convaincants.

sécrétion due à l'action spéciale de la caféine. SOBERIANSKY lui-même, tout en étant assez catégorique dans ses conclusions, déclare cependant « qu'il n'est pas impossible qu'une activité sécrétoire des cellules des tubuli contorti n'existe réellement. Toutefois, si elle existe, elle est très faible. »

RIBBERT (1896) confirme les résultats d'HEIDENHAIN et de NUSSBAUM. Le fait intéressant qui ressort de ses travaux se rapporte à la localisation de l'indigo dans la cellule du tube contourné; la couleur siégerait dans la région interne de la cellule, au niveau de la brosse. Jamais le reste du protoplasma, les noyaux ni les bâtonnets ne sont colorés.

ARNOLD (1902) obtient des résultats analogues.

Toutes les dix minutes, une injection de un cc. de solution saturée d'indigo est faite dans le tissu cellulaire sous-cutané d'une souris. Après une cinquième injection, l'animal est sacrifié et son rein examiné immédiatement à l'état frais. On obtient les résultats suivants: les glomérules ne sont jamais colorés, sauf dans quelques cas, où l'on trouve dans la capsule des masses intensément teintées en bleu; la fréquence, dans ce cas d'altération de la paroi des capillaires glomérulaires, est une preuve de la nature pathologique de ces formations; dans les cellules à bordure striée, le noyau et le protoplasma sont incolores; dans la région interne, supranucléaire, on rencontre de fins corpuscules bleus.

GURWITSCH (1902), sans faire lui-même beaucoup d'expériences avec l'indigo, critique les résultats de tous ses devanciers.

Tout en adoptant pleinement les déductions, qu'HEIDENHAIN a tirées de ses expériences avec le carmin d'indigo, il croit que ces

expériences sont toutes passibles d'objections parce qu'elles sont faites avec une couleur mal appropriée au but. Le carmin d'indigo n'est pas en effet pour lui une couleur vitale. Il peut pénétrer dans les cellules des tubuli contorti (cf. plus haut) mais s'y comporte d'une façon encore mal connue. L'indigo n'a donc pas les avantages d'une couleur vitale, c'est-à-dire pénétrant physiologiquement dans toutes les cellules vivantes.

Il pense que la coloration diffuse du protoplasma et surtout du noyau, qu'a décrite HEIDENHAIN, ne prouve pas que l'indigo ait pénétré réellement, pendant la vie, dans la cellule à bordure striée. Elle est plutôt l'indice d'une diffusion de la couleur et d'une coloration *post mortem* de la cellule, probablement due à ce que l'alcool absolu, employé pour le durcissement de la pièce, s'est hydraté au contact de la pièce imprégnée d'eau et, ainsi, a pu dissoudre un peu d'indigo. Pour affirmer que l'indigo a pénétré dans une cellule, il faut, d'après GURWITSCH, examiner celle-ci à l'état frais, sans intervention de réactifs et la trouver colorée.

A côté de ces critiques, GURWITSCH apporte un fait personnel très important : il a fait la contre-partie de l'expérience de NUSSBAUM : après ligature de la veine porte rénale et injection d'indigo, on ne voit jamais l'urine ni les tubuli contorti devenir bleus ; c'est donc bien exclusivement au niveau de ces derniers que passe l'indigosulfate de soude.

Avant de donner un résumé des résultats obtenus par tous les auteurs dont nous venons d'analyser les travaux, nous devons formuler un desideratum : nous estimons qu'il faudrait répéter l'expérience d'HEIDENHAIN d'une façon plus complète et y fixer les étapes de l'observation. On ne sait pas, d'une façon précise, au bout de combien de temps après l'injection, l'indigo apparaît dans les cel-

lules des tubuli contorti ; on ne sait pas, d'une façon exacte, en combien de temps se fait l'élimination d'une quantité connue d'indigo, etc. Ceci revient à dire qu'un grand nombre d'expériences pour fixer ces points, et d'autres, seraient encore nécessaires, si l'on prétend mettre véritablement la question sur pied et l'élucider quelque peu. Cependant, des résultats obtenus par les nombreux auteurs que nous venons de passer en revue au sujet du mode d'élimination du carmin d'indigo par la voie rénale, on peut d'ores et déjà (nous semble-t-il du moins), déduire et proposer les conclusions suivantes :

1^o *Le carmin d'indigo ne passe pas, du sang dans les voies urinaires, au niveau des glomérules (HEIDENHAIN). Les cas dans lesquels on a observé la couleur dans la capsule de Bowmann) PAUTINSKY, HENSCHEN, SOBERIANSKY), doivent être considérés comme ressortissant à des conditions pathologiques, ou du moins anormales, suscitées par l'expérimentation ;*

2^o *Le carmin d'indigo est éliminé par les épithéliums des tubuli contorti, de la branche large de l'anse de Henle et du segment intermédiaire de Schweigger-Seidel (HEIDENHAIN). On peut le rencontrer, il est vrai ; dans la lumière des autres segments des voies de l'urine, mais, comme on ne l'a jamais décelé dans les cellules épithéliales de ces segments, on doit conclure qu'il a été apporté là après son excrétion, et non pas après traversée de ces mêmes cellules ;*

3^o *Le carmin d'indigo a pu être retrouvé à l'état de corpuscules figurés dans le tiers interne des cellules épithéliales (ARNOLD).*

Néanmoins le carmin d'indigo est une substance qu'on peut considérer, avec Gurwitsch, comme mal appropriées à l'étude du processus histophysiologique de l'excrétion rénale.

CHAPITRE III

L'ÉLIMINATION DU CARMIN

SOMMAIRE : Nature chimique du carmin. Inconvénients de son emploi. Travaux de von WITTICH, de NUSSBAUM, de SCHMIDT, de RIEBBERT, d'ARNOLD. Résumé.

Le terme *carmin* sert à désigner un certain nombre de matières colorantes différentes par leur nature chimique et leurs propriétés bien qu'appartenant au même groupe. Le *carmin ordinaire*, extrait de la cochenille, est, d'après LIEBERMANN (1886) (1), un *composé alumino-calcio-protéique de l'acide carminique*. Cette constitution est pour nous intéressante à connaître; elle nous fait entrevoir l'analogie qui existe entre le carmin et les matières albuminoïdes. L'*acide carminique* résulte de la combinaison d'un glucoside et d'une autre matière colorante rouge. Les sels alcalins de cet acide constituent des couleurs, appelés aussi carmins dans le langage courant, mais ils sont bien différents du carmin ordinaire; le plus employé de ces sels est le *carminate d'ammo-*

(1) LIEBERMANN. *Ber. d. Chem. Gesellsch.* Jahrg. XVIII. 1886, pp. 1969-1975.

niaque (1). Les auteurs précisent souvent mal la couleur qu'ils ont employée, ce qui rend quelquefois leurs résultats difficilement comparables.

Les carmins sont en général insolubles dans l'eau; au contraire les carminates purs y sont solubles. Tous sont insolubles dans l'alcool. Ils sont assez toxiques; la dose injectée expérimentalement suffit souvent à faire périr l'animal. Ces deux raisons majeures : composition mal définie et toxicité, ont conduit R. HEIDENHAIN (1874) à rejeter le carmin et à employer l'indigo pour ses expériences.

Le carmin n'est pas une couleur vitale.

C'est CHRONSZCZEWSKY (1866) qui, le premier, a employé le carmin dans l'étude du rein.

Le carmin ammoniacal serait éliminé par le glomérule et remplirait la lumière des tubuli sous forme d'un magma intensément coloré. Cette expérience, comme nous l'avons dit plus haut, visait un but purement anatomique; elle est trop grossière pour avoir une portée histophysiologique.

A la suite de la publication du mémoire d'HEIDENHAIN, VON WITTICH (1875) a rendu compte des résultats d'expériences, relatives à l'élimination du carmin par le rein, faites soit avant, soit après la publication du travail d'Heidenhain.

Il injecte 5 cc. de solution de carmin ammoniacal dans les veines de chiens et de chats, sans observer d'effet toxique. La

(1) On ne doit pas confondre le *carminate d'ammoniaque*, substance chimiquement définie, avec le *carmin ammoniacal*; ce dernier est du carmin ordinaire dissous dans l'eau ammoniacale; en plus du carminate d'ammoniaque, il contient un grand nombre de corps mal définis parmi lesquels des matières protéiques.

couleur est fixée par de l'alcool neutre ou légèrement acidulé. Voici les résultats qu'il a obtenus.

Au niveau des glomérules, on observe une coloration diffuse des anses glomérulaires; les noyaux sont quelquefois (mais pas toujours) colorés; on ne trouve jamais, dans la capsule, des masses de carmin précipité. Les tubuli contorti ne présentent du carmin que dans leur lumière; leurs cellules épithéliales sont toujours incolores ou bien elles ne présentent que quelques grains de carmin situés dans leur région interne. Les rapports de ces grains avec le protoplasma sont difficiles à préciser.

VON WITTICH conclut de ses expériences que le carmin s'élimine par le glomérule; cette matière colorante diffère donc à ce point de vue de l'indigo qui est excrété par les cellules épithéliales des tubuli contorti. Le carmin passerait en somme à travers le glomérule à l'état dissous, puis serait précipité dans la lumière du tube contourné, au contact de la cellule acide. Au résumé, VON WITTICH conclut de ses expériences qu'il existe des couleurs s'éliminant par les glomérules et d'autres par les tubes contournés; à un point de vue plus général, à côté de substances urinaires à voie d'élimination tubulaire, il en existerait d'autres à voie d'élimination glomérulaire.

M. NUSSBAUM (1878) répète, avec le carmin, les expériences qu'il avait faites avec l'indigo sur la grenouille (expériences que nous avons décrites plus haut). Quand l'artère rénale est liée, le carmin ne passe pas dans l'urine; c'est donc le glomérule qui est chargé de l'éliminer (1). Ce fait concorde donc absolument avec ceux que VON WITTICH a découvert.

SCHMIDT (1890) apporte à son tour une importante contribution à l'étude de l'élimination du carmin.

Il suit la même technique que Von Wittich et Nussbaum mais

(1) HALSEY (1901), répète et vérifie les expériences de Nussbaum.

plus minutieuse encore. Les solutions de carminates qu'il emploie sont absolument limpides (limpidité vérifiée au microscope). C'est là un point très important; car, d'après lui, la coloration des glomérules, observée par les auteurs précédents, tiendrait à l'usage de solutions non claires. Suivant les quantités très variables qu'il injecte dans les veines, SCHMIDT obtient des résultats différents et très instructifs. Ses expériences portent sur les mammifères et les amphibiens.

Chez les mammifères, les glomérules se sont montrés toujours incolores. Les cellules épithéliales des tubes contournés montrent leur brosse légèrement colorée; et, dans leur tiers interne, elles renferment un nombre variable de granulations colorées en rouge. Au niveau des tubes droits, dans la lumière, on trouve des masses compactes de carmin; ce ne seraient pas là de simples précipités, mais bien un *dépôt de la matière colorante sur un squelette organique*.

Chez la grenouille, les aspects obtenus sont un peu différents. La brosse n'est pas colorée; la cellule épithéliale est remplie de granula chargés de carmin, disposés en séries plus ou moins parallèles.

SCHMIDT considère ces granulations qui se colorent par le carmin comme identiques aux *granula* qu'ALTMANN a décrits dans un grand nombre de cellules et auxquels il attache une grande portée physiologique. Cette imprégnation des « granula » par le carmin serait, pour SCHMIDT, la preuve de leur rôle actif dans le fonctionnement de la cellule rénale. Ce n'est pas ici la place d'une discussion sur la valeur si contestée des vues de ALTMANN sur la constitution intime du protoplasma. Nous nous contenterons de tirer et de retenir du travail de SCHMIDT ce fait : que *le carmin n'est pas éliminé au niveau des glomérules, mais bien au niveau des cellules épithéliales des tubuli, dans lesquelles on peut les retrouver en nature*.

VON SOBERIANSKY (1895) a obtenu à peu près les mêmes résultats que SCHMIDT; mais il en donne une interprétation différente.

L'existence de grains de carmin au niveau du tiers interne de la cellule ne prouve pas, dit-il, qu'il y ait eu excrétion du carmin par cette cellule. Pourquoi, dans ce cas, en retrouverait-on seulement au niveau de cette région interne et jamais au niveau de la région externe ? L'existence de ces grains à une telle place serait, au contraire, beaucoup plutôt l'indice d'une résorption du carmin au niveau des tubes contournés. Il est beaucoup plus logique, pour Soberiansky, d'admettre que le carmin a passé par le glomérule et a été résorbé au niveau du tube contourné. Nous ne sommes pas de son avis. Eclairés par l'histologie et les données relatives aux autres matières colorantes, nous savons que la couleur se localise au niveau du tiers interne de la cellule parce que c'est là que se trouvent les condensateurs qui font partie intégrante de cette cellule. Quoi qu'il en soit, nous nous contenterons de noter qu'il a confirmé les faits découverts par SCHMIDT.

RIBBERT (1896) renouvelle cette confirmation.

Le carmin injecté dans l'organisme d'un mammifère est retrouvé au niveau des cellules épithéliales des tubuli contorti sous forme de granulations siégeant dans leur tiers interne; la brosse est colorée et présenterait quelques granulations dans son intérieur. Dans la lumière, on retrouve du carmin précipité; celui-ci serait particulièrement abondant au niveau des tubes droits, des pièces intermédiaires de SCHWEIGGER-SEIDEL et des anses de HENLE; ce serait-là, pour RIBBERT, l'indice d'une concentration de l'urine, chargée de carmin, par une résorption d'eau s'opérant au niveau des anses de Henle et des tubes droits.

En dehors de toute question d'interprétation, RIBBERT a donc confirmé purement et simplement les résultats de SCHMIDT et de SOBERIANSKY.

J. ARNOLD (1902) emploie le *carminate de lithium* (ou carmin lithiné) en solution concentrée, mais claire.

Dans la capsule des glomérules, il trouve fréquemment des granulations colorées. Il ne veut rien conclure de ce fait, car il

pense à la possibilité d'un reflux des granulations de la lumière du tube dans la capsule.

Au niveau des cellules des tubuli contorti, il trouve la brosse colorée en rouge et des grains de carmin dans la région supranucléaire. Il note, à ce propos, que les grains sont en général situés à la périphérie de la cellule. Dans beaucoup de canalicules, on rencontre même une remarquable disposition : en vue tangentielle, on aperçoit des champs clairs, avec noyau au centre, séparés par des bordures plus ou moins étroites composées de grains de carmin. Comme l'avait déjà remarqué SCHMIDT, il est très difficile de savoir si les grains sont en ce cas situés entre les cellules ou, au contraire, à la périphérie de chaque corps cellulaire. ARNOLD a quelquefois cru voir des grains de carmin dans la région externe de la cellule ; mais il se demande si ce n'est pas une erreur due à l'obliquité de la coupe ou à un déplacement artificiel des grains de carmin.

Comme pour l'indigo, ARNOLD ne tire de ses expériences aucune conclusion particulière au rein.

Tels sont les résultats obtenus par les auteurs avec le carmin. Nous pouvons les résumer ainsi qu'il suit :

1^o Le carmin est-il éliminé au niveau des glomérules ? La question ne peut recevoir encore de réponse ; elle appelle de nouvelles recherches.

2^o Le carmin est éliminé, pour une partie du moins, par l'épithélium du tube contourné, de la branche large de l'anse de Henle et du segment intermédiaire de Schweigger-Seidel (SCHMIDT, RIBBERT et ARNOLD).

3^o Le carmin a pu être retrouvé à l'état de corpuscules figurés dans le tiers interne des cellules épithéliales des tubes à bordure en brosse.

CHAPITRE IV

L'ÉLIMINATION DU ROUGE NEUTRE

Au point de vue chimique, le *rouge neutre* ou rouge de toluylène, est une couleur basique, dérivée des *azines*, comme la safranine ; l'épithète de neutre s'applique à la teinte que présente cette substance. Elle vire au rouge vif par les acides ; elle est, d'après OVERTON, soluble dans les matières dites lipoides ; c'est un colorant vital par excellence.

Le rouge neutre a été introduit dans la technique histologique par EHRLICH (1894), qui a montré que c'était un colorant vital des granulations intracytoplasmiques ; après EHRLICH, un grand nombre d'auteurs ont fait des recherches sur le mode d'action de cette matière colorante.

Le mode d'emploi du rouge neutre diffère de celui des autres matières colorantes vitales en ce que, pour juger de sa localisation et de son action sur les éléments vivants, on ne les précipite pas au sein des tissus, mais qu'on examine ceux-ci à l'état frais et que, dans ce même état, on observe dans quelles cellules le rouge s'est localisé.

L'élimination du rouge neutre par le rein n'a été étudiée que par ARNOLD (1902).

Quatre à cinq injections de 1cc. de solution tiède de rouge neutre étaient faites dans le tissu cellulaire sous-cutané d'une souris. Sur des coupes et des dissociations de rein frais, ARNOLD vit dans les cellules des tubes contournés un certain nombre de grains colorés en rouge, siégeant *exclusivement* dans la région supranucléaire, entre la brosse et le noyau. Tout le reste de la cellule était incolore.

Dans le même travail, ARNOLD emploie également le rouge neutre comme colorant post-vital. Il décrit dans la région supranucléaire des cellules épithéliales des granulations rouges, en quantités variables dans les différents tubes. Les limites cellulaires, les noyaux, le protoplasma restent incolores. Au bout d'un certain temps, les cellules de la préparation s'altèrent et la coloration gagne alors la région infranucléaire, les bâtonnets et finalement le noyau. ARNOLD ne tire, à part cela, de ses recherches aucune conclusion physiologique particulière au rein.

REGAUD et nous-même (REGAUD et POLICARD 1903) avons appliqué le rouge neutre à la mise en évidence des processus d'élimination dans le tube urinaire des ophiidiens ; le rouge neutre nous a donc servi de *colorant sur des tubes urinaires à cellules encore vivantes*, enlevés à l'animal récemment tué. Il est probable, cependant, que le rouge neutre, introduit dans l'organisme et excrété par les cellules rénales, mettrait en évidence des processus d'élimination analogues.

Un fragment de rein, de vipère par exemple, est dissocié dans du sérum à 8 pour 1000, additionné d'un peu de rouge neutre. Chez cet animal, les différents tubes du rein se laissent facilement isoler par dissociation ménagée. Au niveau du segment du tube revêtu de cellules à bordure striée, nous avons pu constater

l'existence, dans la zone supranucléaire de grains colorés en rouge intense ; la coloration en est élective et presque instantanée.

Quant à l'abondance, au volume, à la coloration, etc., des grains, les tubes urinaires se classent en trois catégories, dont les caractères différents frappent immédiatement l'observateur. — *A.* Certains tubes ont la zone supranucléaire de leurs cellules épithéliales bourrée de grains nombreux, gros et fortement colorés ; il en résulte l'apparence d'une bande rouge foncé, centrale, masquant la lumière par son opacité relative ; cette bande foncée est bordée de chaque côté par une mince bande claire qui correspond à la zone infranucléaire. La lumière est étroite. — *B.* D'autres tubes ont un aspect absolument opposé ; les grains (qui, au sein des cellules épithéliales ne font complètement défaut dans aucun tube) sont petits, rares, anguleux, toujours colorés en rouge intense. La lumière du tube est très apparente et très large. — *C.* Des tubes, appartenant à un dernier type, ont un aspect intermédiaire entre les deux précédents. Les grains intracellulaires sont moyennement gros et très nombreux, mais beaucoup demeurent incolores. Il y a des aspects intermédiaires.

Suivant les espèces de serpents, on constate des variations portant sur des détails peu importants. Dans la même espèce on relève des variations individuelles en rapport avec l'état de la nutrition.

Jamais on ne rencontre de segments à bordure striée complètement dépourvus de corpuscules colorables par le rouge neutre. Il est possible d'interpréter ce fait de plusieurs manières. On peut supposer que les grains disparaissent après l'élimination de leur substance propre ; c'est-à-dire qu'ils cessent d'exister et que les grains plus fins (que l'on rencontre colorés en rouge après la disparition des grains précédents) représentent le premier stade de grains nouveaux. Dans ce cas, les stades successifs du processus sécrétoire chevaucheraient l'un par rapport à l'autre, ce qui n'est pas invraisemblable. — On peut aussi soutenir que le grain, arrivé à maturité, ne disparaît pas complètement ; les fins corpuscules colorés par le rouge neutre représenteraient, dans ce cas, la partie permanente, le *substratum* d'amorce et toujours subsistant d'un grain futur.

Lorsque des grains sont sortis accidentellement de la cellule (écrasement pendant la dissociation par exemple), ils ne se colorent pas par la solution de rouge neutre au sein de laquelle pourtant ils sont immergés. On doit en conclure que la colorabilité par le rouge neutre est une *propriété non point du condensateur tout entier, mais d'une nappe fluide qui l'entoure et l'imbibe dans la vacuole protoplasmique où il est étroitement logé*. C'est cette nappe élaboratrice des grains de ségrégation, et non ce dernier une fois fait, qui fixe le rouge neutre.

Jamais dans un tube non traumatisé, on ne voit de grains excrétés en nature dans la lumière : donc *l'excrétion de la substance des grains ne s'opère pas par effraction de la cuticule striée, mais bien par exomose à travers celle-ci laquelle demeure permanente et intacte*.

Il est évident que les trois aspects décrits plus haut correspondent à des stades fonctionnels différents. En effet, sur toute la longueur d'un même tube, toutes les cellules sont simultanément du même type quant à leur configuration, leur teneur en grains et à la répartition de ceux-ci dans le corps cellulaire. Par conséquent toutes sont au même stade fonctionnel. Donc *l'alternance fonctionnelle s'effectue en masse de tube à tube, et non en détail de cellules à cellules dans un même tube comme cela a lieu dans une foule d'organes glandulaires connus*.

Dans toutes nos expériences, les *gouttelettes de graisse*, particulièrement abondantes chez les serpents et facilement visible dans nos dissociations, *ne sont jamais colorées par le rouge neutre : fait absolument contraire aux idées de GURWITSCH*, puisque ces cellules épithéliales chargées de graisse renfermeraient à son point de vue par excellence les lipoides, qui pour lui sont les fixateurs électifs des colorants à action vitale.

Tels sont les principaux résultats que l'emploi du rouge neutre nous a permis d'établir d'une façon certaine. Si leur intégrale compréhension nous échappe encore, ils n'en jettent pas moins, à notre avis, un jour certain sur l'histophysiologie de la sécrétion urinaire.

En effet, nous apprenons de la sorte :

1^o Qu'il se forme dans les cellules épithéliales des tubes à brosse des grains de ségrégation (1) ;

2^o Qu'ils s'élaborent dans des vacuoles spéciales au sein d'un milieu différencié fixant électivement le rouge neutre ;

3^o Que leur excrétion exocellulaire s'exécute par dialyse et non par effraction ;

4^o Que successivement les tubes urinaires à épithélium doués du pouvoir sécréteur entrent en fonction chacun à son tour, leur épithélium fonctionnant en bloc, isochroniquement et non pas successivement pour toutes les cellules actives de chaque tube.

(1) Ces grains, nous devons le rappeler, se voient sur l'épithélium vivant, sans coloration aucune et ils se teignent, dans les préparations fixées, par un grand nombre de procédés. Leur préexistence dans les cellules vivantes ne doit donc faire aucun doute.

CHAPITRE V

L'ÉLIMINATION DU BLEU DE TOLUIDINE

Le bleu de toluidine, en tant que colorant vital, a été employé comme succédané du bleu de méthylène dans la coloration des éléments nerveux (HARRIS 1898) (1). Au point de vue chimique, il est dérivé des thiazines comme le bleu de méthylène. Comme lui encore il est soluble dans l'eau, l'alcool. Certains sels (molybdates et picrates) le précipitent de ces solutions et servent à le fixer en place au sein des tissus.

GURWITSCH est, à notre connaissance, le seul auteur qui ait employé cette matière colorante pour l'étude de la sécrétion rénale.

La grenouille servait d'animal d'étude ; la couleur était soit injectée dans le sac lymphatique dorsal, soit introduite par la voie digestive. Le rein était examiné vivant par la dissociation, ou bien fixé par le molybdate d'ammoniaque.

GURWITSCH établit d'abord que le bleu s'élimine au niveau de la deuxième partie du tube contourné (segment à cellules à brosse). Cette constatation microscopique directe est vérifiée par l'expérimentation ; en effet, dans un rein à veine porte rénale liée, ces segments restent toujours incolores, après une injection de bleu de toluidine.

(1) HARRIS. *Philadelphia med. journal*, 14 mai 1898.

A l'intérieur de la cellule à bordure striée, la couleur n'est pas uniformément répartie : *elle se localise, dit GURWITSCH, au niveau des vacuoles à contenu lipophile*, dont nous avons parlé plus haut. Dans l'élimination du bleu de toluidine, GURWITSCH distingue en outre un certain nombre de stades.

1° Dans un stade initial on trouve, à la base de la cellule, de grosses vacuoles colorés intensément en bleu dans les préparations fraîches, présentant sur leurs parois un précipité de couleur, dans les préparations fixées. Ces vacuoles seraient de nature lipophile ; c'est pourquoi elles accumulent le bleu de toluidine, matière colorante soluble dans ce groupe de substance. (Cf. plus haut) ;

2° Dans un second stade, les vacuoles n'occupent plus la base de la cellule. Elles sont situées autour et au-dessous du noyau ;

3° Dans un stade final, les vacuoles lipophiles primitivement petites se sont transformées en vacuoles plus grosses. Celles-ci vont parfois crever à la surface de la cellule et vider leur matière colorante dans la lumière. GURWITSCH insiste longuement sur ce point particulier. Il finit par admettre l'existence de deux modes possibles d'excrétion ; dans un premier mode, les vacuoles crèvent à la surface de la cellule en entraînant une effraction de la brosse ; dans un second mode, il y a excrétion sans effraction de la brosse par simple filtration du liquide des vacuoles entre les poils de celle-ci.

GURWITSCH, d'autre part, n'admet pas que les vacuoles condensatrices de la couleur vitale expulsent entièrement leur contenu ; elles laissent échapper seulement la substance dissoute ; le dissolvant persiste pour recommencer ensuite le même travail d'accumulation. Il nous semble que c'est un fait contradictoire avec l'ouverture des vacuoles dans la lumière, telle que la décrit d'autre part GURWITSCH.

Nous devons nous demander *pourquoi* GURWITSCH assimile les vacuoles teintées en bleu à des vacuoles lipophiles. Sur des préparations fixées par l'acide osmique, GURWITSCH voit dans la région infranucléaire des vacuoles teintées en

noir et en bistre; avec raison il les considère comme vacuoles occupées par de la graisse. — D'autre part, en examinant les mêmes cellules dans un rein en train d'éliminer du bleu de toluidine, il voit dans cette région supranucléaire des vacuoles teintées en bleu. Il établit hardiment un rapport d'identité entre ces deux formations : vacuoles colorées par OsO_4 d'une part et vacuoles à bleu de toluidine d'autre part. C'est ici la base même de la théorie de GURWITSCH; nous tenions à la préciser d'autant plus, que nous venons de voir qu'une telle identification — de laquelle cependant dépend tout le reste, — ne paraît pas devoir être tenue pour aussi légitime que le pense GURWITSCH.

CHAPITRE VI

L'ÉLIMINATION DU BLEU DE MÉTHYLÈNE

SOMMAIRE : 1° Histophysiologie de l'excrétion du bleu de méthylène par le rein. Nature chimique et propriétés du bleu. Sa façon de se comporter à l'égard des cellules vivantes en général et de la cellule rénale en particulier. Mode d'élimination du bleu. Résumé. — 2° Quelques considérations sur l'épreuve du bleu de méthylène employée pour évaluer la perméabilité rénale.

Le bleu de méthylène présente un intérêt particulier à cause de son emploi pour l'épreuve dite de la perméabilité rénale. Nous allons scinder son étude en deux parties :

1° *Histophysiologie de l'excrétion du bleu de méthylène ;*

2° *Quelques considérations sur l'épreuve du bleu de méthylène employée pour évaluer la perméabilité rénale.*

I. HISTOPHYSIOLOGIE DE L'EXCRÉTION DU BLEU DE MÉTHYLÈNE.

Le bleu de méthylène appartient au groupe des *thiazines* ; c'est un sel (chlorozincate ou chlorhydrate suivant la variété employée) de tétraméthylthionine ; il est soluble

dans l'eau, l'alcool, etc. Les alcalis et les acides le décomposent assez difficilement ; un certain nombre de sels (picrates, molybdates, etc.) le précipitent de ses solutions et ainsi peuvent servir à le fixer au sein des tissus. Comme toutes les thiazines, le bleu de méthylène est facilement transformé par les agents réducteurs en dérivés incolores ou leucodérivés ; ces composés se réoxydent facilement et régénèrent par suite la couleur bleue primitive.

Comment le bleu de méthylène se comporte-t-il à l'égard des cellules vivantes ?

EHRlich (1885) a découvert que le bleu de méthylène employé, soit en injection dans l'organisme vivant, soit en coloration sur des tissus encore vivants, possède la propriété de se fixer électivement chez certains éléments cellulaires, en particulier les cellules nerveuses, pour ensuite les colorer en bleu dans certaines conditions. Il a fondé sur cette découverte sa célèbre méthode technique pour la coloration des éléments nerveux. Ceux-ci, après exposition convenable à l'oxygène, se teignent en bleu pur. EHRlich pensait que c'était le protoplasma neural tout entier qui, dans ce cas, prenait la coloration bleue. Nous verrons plus loin qu'il n'en est pas tout à fait ainsi.

Après EHRlich, de nombreux auteurs constatèrent des faits analogues. On analysa de plus près le phénomène et on put constater que, dans la cellule réellement vivante, se coloraient seulement les grains de sécrétion et une série d'éléments constitutifs cellulaires « qui ne prennent pas une part directe à la vitalité de la cellule » (GALEOTTI) ; au contraire, quand la cellule est morte, le protoplasma se teint diffusément. Avec GALEOTTI (1894), on tend à admettre aujourd'hui qu'une cellule, dont le protoplasma

se colore d'une façon diffuse par le bleu de méthylène, est douée d'une vitalité amoindrie, sinon éteinte. Quand au contraire la cellule est bien vivante, certains liquides imbibitifs et certaines enclaves du protoplasma se colorent seuls en présence du bleu.

Cela posé, comment le bleu de méthylène se comporte-t-il à l'égard de la cellule du tube contourné du rein ?

Arnold est, à notre connaissance, le seul auteur qui ait employé les colorations postvitales avec le bleu de méthylène dans le but déterminé d'étudier la cellule rénale.

En dissociant le rein de souris dans du sérum isotonique additionné de bleu de méthylène, il vit des granulations se colorer intensément en bleu dans la région supranucléaire des cellules à bordure striée. Au bout d'un certain temps, quand la cellule commence à s'altérer, d'autres granulations, puis les bâtonnets se teignent en bleu dans la région infranucléaire. Finalement quand la cellule est morte, le noyau apparaît coloré en bleu. Ceci tient à ce qu'il est lui-même frappé de mort.

Des faits analogues, mais mal précisés, ont été constatés par les auteurs qui étudièrent les terminaisons nerveuses dans le rein par la méthode d'EHRlich ; mais ils se bornèrent à une simple constatation, quelquefois même se contentèrent de les figurer sans autre explication.

Le mode d'élimination du bleu de méthylène à travers le rein, après son introduction dans l'organisme vivant, a été, par contre, beaucoup plus étudié.

O. SCHULTZE (1887) fait vivre des larves de salamandre ou de tritons dans une solution de bleu au millionième, ce qui revient, en somme, à introduire dans l'organisme le bleu par la voie digestive. Dans le rein examiné à l'état frais, on rencontre dès lors beaucoup de canalicules dont

les épithélium renferment des grains bleus abondants, tandis que d'autres n'en contiennent pas trace.

KUHN (1890) injecte de fortes quantités de bleu de méthylène (3 cc. de solution concentrée) dans le sac lymphatique dorsale d'une grenouille. Au bout de un à deux jours, les granules de ALTMANN seraient en ce cas colorés dans les cellules de l'épithélium des tubes contournés.

GALEOTTI (1894) injecte du bleu de méthylène dans le péritoine de salamandres aquatiques. Peu après le rein présente au niveau des tubes contournés de grosses granulations colorées en bleu intense. Les glomérules demeurent incolores.

Pour ACHARD et CASTAIGNE (1900) l'élimination du bleu par le rein se fait au niveau du tube contourné ; cela même résulterait d'expériences faites par GARNIER (de Nancy).

Cet auteur, « en fixant le bleu par le molybdate d'ammonique, » a constaté que, « chez la grenouille, la matière colorante se localise dans le protoplasma des cellules du tube contourné. » On n'en trouve jamais dans le glomérule.

Le manque absolu d'indications bibliographiques ne nous a pas permis de recourir au travail de GARNIER. En tous cas, d'après ce qu'en disent ACHARD et CASTAIGNE, cet auteur ne s'est pas demandé sous quelle forme le bleu de méthylène se trouvait au sein de la cellule du tube contourné.

Dans un travail paru la même année, CASTAIGNE (1900) essaie de déterminer le lieu d'élimination du bleu de méthylène introduit dans l'organisme d'un mammifère. Après avoir établi que cette matière colorante arrive au

rein sous forme de leucodérivé, il se demande « comment la substance incolore se transforme en bleu, et par quelle partie du rein elle est éliminée. »

Pour résoudre cette question, CASTAIGNE répète « l'expérience d'HEIDENHAIN en remplaçant le bleu d'indigo par le bleu de méthylène. Si une injection intraveineuse de 5 cc. de la solution à 1/20^e est faite à un chien, après une abondante saignée qui permet d'abaisser fortement la tension artérielle, on constate, en faisant la néphrectomie une demi-heure ou une heure après, que la substance corticale a, dans son ensemble, un aspect verdâtre. Mais en coupant le rein après congélation, on s'aperçoit que les glomérules vides de sang ne sont nullement colorés en bleu, tandis que la plus grande partie des tubes contournés présente une coloration bleue uniforme. »

Deux hypothèses sont capables d'expliquer ces résultats. Elles consistent à admettre : a) *la sécrétion du bleu par les cellules ;* ou bien b) *la filtration du leucodérivé à travers le glomérule suivie d'une résorption et d'une transformation en bleu au niveau des tubuli.* Pour trancher entre ces deux hypothèses, CASTAIGNE essaie de déterminer expérimentalement des lésions *uniquement glomérulaires* (par intoxication saturnine aiguë) et des lésions *uniquement tubulaires* (par intoxication par le sublimé). Chez un animal atteint de néphrite saturnine, le bleu, injecté dans le tissu cellulaire sous-cutané, ne passe pas dans l'urine ; chez un animal atteint de néphrite hydrargyrique, le bleu passe. L'élimination de la matière colorante dépend donc de l'intégrité du glomérule ; pour CASTAIGNE, c'est donc ce dernier organe qui est le lieu d'élimination du bleu de méthylène.

Le travail de CASTAIGNE appelle de sérieuses critiques. Tout d'abord les détails techniques y sont absolument insuffisants ; la reproduction littérale du passage qui se rapporte à ceux-ci le montre nettement. Des critiques, plus graves encore, doivent être portées contre les expé-

riences faites par CASTAIGNE dans le but de déterminer le lieu d'élimination du bleu de méthylène. Tout ce qu'il dit serait parfaitement raisonné, si l'auteur partait d'un point de départ solide. Malheureusement, aucun histologiste compétent, ayant étudié de près et constaté l'étroite solidarité anatomique et fonctionnelle, qui lie le glomérule au canalicule urinaire chez les mammifères, ne peut admettre, même un seul instant, qu'il soit en notre pouvoir, par les moyens indiqués par CASTAIGNE de léser distinctement *à volonté*, le glomérule ou le canalicule qui lui fait suite. Cette conception, qui cadre trop bien avec certaines idées généralement admises en anatomopathologie grossière, est en effet absolument inexacte.

De son côté, ARNOLD (1902) injecta, en plusieurs fois, dans le tissu cellulaire sous-cutané d'une souris, une solution concentrée de bleu de méthylène. L'animal est tué dix minutes après la dernière injection et le rein examiné immédiatement à l'état frais. On trouve alors, dans les cellules des tubuli contorti, des granulations bleues situées immédiatement sous la brosse. Quand on attend un certain temps, la cellule s'altère et finit par se colorer toute entière d'une façon diffuse, tout comme dans les colorations post-vitales. (Cf. plus haut).

GURWITSCH (1902) répète avec le bleu de méthylène les expériences qu'il a faites avec le bleu de toluidine et que nous avons exposées tout à l'heure. Il constate absolument les mêmes résultats; nous renvoyons donc sur ce point le lecteur à ce que nous avons déjà dit dans le précédent chapitre.

En résumé :

1^o Il est absolument indiscutable que le bleu de méthylène est excrété, au moins en partie, par l'épithélium des tubes contournés;

2^o Passe-t-il aussi en partie par le glomérule, à l'état de leucodérivé par exemple ? Aucune preuve ne le démontre ; cependant, cela n'est point rationnellement impossible, et, à ce point de vue, la solution définitive de la question exige de nouvelles recherches. En tout cas, on ne saura si le bleu de méthylène passe en partie par le glomérule que si on l'y a fixé et saisi par quelque méthode que ce soit, par exemple par un artifice d'histochimie ramenant le leucodérivé glomérulaire — si toutefois il existe — à l'état coloré. D'ici là nous devons considérer comme une simple vue de l'esprit son passage par le glomérule

* * *

II. — QUELQUES CONSIDÉRATIONS SUR L'ÉPREUVE DU BLEU DE MÉTHYLÈNE EMPLOYÉE POUR ÉVALUER LA PERMÉABILITÉ RÉNALE.

Chez un homme bien portant, sans tare rénale, le bleu de méthylène, qu'on a injecté dans le tissu cellulaire sous-cutané, apparaît dans l'urine environ 15 minutes après l'injection ; on l'y retrouve à l'état de bleu et à l'état de leucodérivé (chromogène de ACHARD et CASTAIGNE). L'élimination du bleu dure environ 50 à 60 heures ; elle atteint un maximum à peu près une demi-heure après l'injection et décroît ensuite régulièrement. Cette expérience est le point de départ du procédé de ACHARD et

CASTAIGNE (1897) pour l'étude de la perméabilité rénale par l'épreuve du bleu de méthylène.

Le degré de perméabilité rénale se déduit :

1^o De *l'intervalle* qui sépare la première injection de l'apparition du bleu dans l'urine ;

2^o De la *durée totale* de l'élimination ;

3^o Du *rythme* de l'élimination, c'est-à-dire de la présence ou de l'absence de maxima et de minima successifs dans la quantité de bleu éliminée ;

4^o De la *proportion relative* du chromogène et du bleu de méthylène éliminés.

Entre le moment où le bleu est injecté et celui où l'on commence à constater son apparition dans l'urine, il s'écoule un temps plus ou moins long, et la matière colorante passe par des *phases* qu'il importe d'analyser. Nous examinerons ces phases une à une ; nous indiquerons, en outre, les conditions qui peuvent les faire varier et influencer ainsi sur la marche générale de l'élimination du bleu par le rein.

1^o *Le bleu est injecté dans le tissu cellulaire sous-cutané.*

A ce niveau, commence-t-il à se réduire en leucodérivé ? Le bleu est-il absorbé en nature ou bien sous forme de leucodérivé ? Les données expérimentales manquant totalement à ce sujet, ces points intéressants ne sont pas encore élucidés.

2^o *Le bleu (ou son leucodérivé) est absorbé et passe dans le sang.*

La durée de cette absorption n'a jamais été déterminée ; elle serait cependant fort intéressante à connaître, car elle doit influencer

beaucoup sur la durée totale de l'élimination du bleu par le rein. Il est certain qu'un grand nombre de conditions font varier cette absorption, et que des différences dans le moment d'apparition du bleu dans l'urine, peuvent provenir, non pas d'une différence de perméabilité du rein, mais d'une différence dans la rapidité de l'absorption du bleu injecté sous la peau. ACHARD et CASTAIGNE (1897), CASTAIGNE (1900) se sont préoccupés de cette objection. Pour savoir quand le bleu commence à être absorbé, ils injectent en même temps que lui une substance (iodure de potassium, chlorate de sodium), qui s'élimine par l'urine en même temps que par la salive. Admettant *a priori* que l'absorption de ces deux substances (bleu et iodure) a une marche identique, ils concluent que l'absorption des deux a eu lieu quand la seconde substance, l'iodure, est décelable dans la salive ; on peut, de cette façon, se rendre compte des variations en plus ou en moins de la rapidité de l'absorption. En pratique, la plupart du temps, quand il y a retard d'apparition du bleu, l'iodure apparaît cependant dans la salive dans les mêmes délais que chez un sujet normal ; le retard d'apparition du bleu dans l'urine dépend donc d'un défaut de perméabilité du rein et non pas d'une lenteur de l'absorption du liquide injecté.

En réalité, deux objections peuvent être faites à ces expériences de ACHARD et CASTAIGNE : 1° Il peut y avoir des différences entre la vitesse de l'absorption du bleu et celle de l'iodure ; 2° De plus, ACHARD et CASTAIGNE ne s'occupent que du moment d'apparition du bleu dans l'urine ; or l'absorption peut commencer dans un délai normal mais, étant faible, durer plus longtemps ; cela détermine une augmentation corrélative de la durée de l'élimination du bleu ; augmentation qu'un esprit non prévenu mettra sur le compte de l'imperméabilité rénale.

3° *Le bleu circule avec le sang.*

A ce moment, le bleu est tout entier réduit à l'état de leucodérivé ; le fait est certain ; personne n'a pu, même spectroscopiquement, déceler alors le bleu dans le sang circulant. Le leucodérivé est répandu dans toute la masse du sang ; pour qu'il soit tout

entier éliminé, il faut que toute cette masse sanguine ait passé par le rein un grand nombre de fois. Etant donnée la disposition anatomique du système circulatoire, ce passage demande évidemment un temps fort long ; ce qui explique la longueur relative de l'élimination (50 à 70 heures). A ce stade pourront intervenir certaines influences pathologiques, d'ordre circulatoire, qui modifieront encore la marche de l'élimination.

4^o Le leucodérivé passe dans les glomérules.

Une certaine quantité de leucodérivé peut, au niveau du glomérule, filtrer avec l'eau et certains sels, dans la proportion où il se trouve dans le sang. Les glomérules restant toujours incolores, on doit donc admettre que ce leucodérivé n'y est pas oxydé (1). Cette filtration à travers le glomérule peut expliquer l'apparition dans l'urine du leucodérivé avant le bleu (REYNAUD et OLMER, 1899), car cette filtration se produit évidemment plus vite qu'une sécrétion au niveau du tube contourné. Le fait cependant n'est pas démontré.

5^o Le leucodérivé est accumulé par les cellules du tube contourné.

L'élimination des matériaux urinaires dans la lumière du canalicule est nécessairement précédée de leur accumulation dans les cellules épithéliales. Cette accumulation est le fait d'éléments constituant de la cellule, auxquels on peut donner, avec GURWITSCH, le nom de *condensateurs*. Lorsque la cellule est altérée, les condensateurs fonctionnent mal ou pas du tout et ainsi le leucodérivé ne pénètre pas dans les cellules ou bien il y pénètre mal.

6^o En même temps que le leucodérivé pénètre dans

(1) R. LILLIE (1902), qui a étudié histochimiquement les propriétés oxydantes du rein, a trouvé que les glomérules sont complètement dépourvus de telles propriétés.

les cellules rénales, il y est oxydé et transformé de nouveau en bleu (1).

On sait que la cellule rénale est douée de propriétés oxydantes grâce auxquelles se produisent d'importants actes chimiques (2). Les reins malades ont perdu ces propriétés oxydantes (HORSLEY) ; ils ne transforment plus le leucodérivé en bleu comme le fait le rein normal. Sous certaines influences, cette oxydation du leucodérivé ne se produit donc pas, mais il se peut que même dans ces conditions, le leucodérivé soit cependant éliminé ; il y a, en somme, *dissociation* entre le pouvoir d'accumulation et le pouvoir d'oxydation. CASTAIGNE admet la possibilité d'une dissociation entre le pouvoir oxydant et le pouvoir absorbant que, d'après lui, les cellules des tubuli possèdent vis-a-vis du bleu éliminé par les glomérules. D'après cet auteur, ce pouvoir d'oxydation peut disparaître sous l'influence de troubles passagers sans dégénérescence cellulaire. Nous rappellerons, à ce sujet, qu'il existe un certain nombre de substances, comme le bicarbonate de soude, dont l'ingestion amène une diminution de la proportion dans l'urine du bleu éliminé par rapport à celle du leucodérivé.

7^o Le bleu passe de la cellule dans la lumière du tubulus contortus.

Nous avons admis qu'il s'agissait d'une exosmose. Sous certaines influences, cette exosmose doit certainement varier. En tous cas, nous n'avons aucune donnée à ce sujet.

(1) Le bleu, provenant de l'oxydation du leucodérivé, est-il identique au bleu injecté ? MULLER (1899), CASTAIGNE (1900), semblent en douter. Ce dernier déclare que le bleu retrouvé dans l'urine est soluble dans le chloroforme tandis que le bleu injecté ne l'est pas. Des recherches chimiques précises seraient nécessaires à ce point de vue.

(2) Au niveau du rein, le glycocolle et l'acide benzoïque sont, par oxydation, transformés en acide hippurique (BUNGE et SCHMIEDEBERG 1876) l'aldéhyde salicylique est oxydée en acide salicylique, l'alcool benzylique en acide benzoïque (SCHMIEDEBERG 1881), etc.

8° *Le bleu se trouve dans l'urine.*

A ce moment, sous l'influence de la fermentation ammoniacale (soit à l'air, soit dans la vessie dans le cas de cystite), le bleu peut se réduire de nouveau en leucodérivés, qui diffèrent de celui qu'on rencontre dans l'organisme par leur facile oxydation ; une simple agitation à l'air suffit à les transformer en bleu.

Chacune des phases que nous venons de passer en revue comporte l'existence de plusieurs facteurs, qui influent tous finalement sur la marche de l'élimination du bleu de méthylène dans l'urine. Le nombre considérable de ces facteurs, l'ignorance dans laquelle nous sommes au sujet de leur degré d'influence dans le phénomène global, ne permettent pas de considérer l'élimination du bleu comme un phénomène de détermination facile.

Quelles déductions les faits précédemment exposés permettent-ils de tirer, au point de vue de la valeur clinique de l'épreuve du bleu de méthylène ? Cette épreuve peut être employée à la solution des deux questions suivantes :

1° La perméabilité rénale est-elle diminuée ?

2° Dans le cas où la perméabilité rénale est diminuée, la lésion causale est-elle plutôt glomérulaire qu'épithéliale ?

1° *La perméabilité rénale est-elle diminuée ?*

Tout d'abord, peut-on conclure d'une diminution de la perméabilité rénale au bleu de méthylène à une diminution de la perméabilité pour telle ou telle substance urinaire ?

Cette question a été posée par LÉPINE (1898), au moment de la mise à jour de la méthode d'ACHARD et CASTAIGNE. Nous ne pouvons pas conclure rigoureusement du mode d'élimination du bleu de méthylène au mode d'élimination de l'acide urique, de l'urée, des toxines, etc. Il n'est nullement démontré qu'il y ait *parallélisme de l'élimination* de toutes ces substances, même en admettant qu'elles soient toutes éliminées par l'épithélium des tubes contournés. Car les unes peuvent être éliminées plus facilement que les autres.

Une deuxième objection (à notre avis beaucoup plus grave) est tirée du grand nombre de facteurs (dont beaucoup sont extrarénaux) qui influent, d'une manière impossible à préciser, sur l'élimination du bleu.

Nous ne nions pas que l'imperméabilité évidente du rein au bleu de méthylène ne puisse autoriser à conclure à l'insuffisance rénale; mais dans ce cas, l'épreuve du bleu de méthylène n'apporte pas un élément bien important au diagnostic. Quand le rein est réduit à un bloc de graisse ou de tissu fibreux, l'épreuve du bleu de méthylène est parfaitement inutile.

2* *Dans le cas où la perméabilité est diminuée, la lésion causale est-elle plutôt glomérulaire qu'épithéliale ?*

Peut-on déduire de l'épreuve du bleu de méthylène, le diagnostic anatomique et la localisation exacte des lésions rénales ?

Nous savons qu'à l'état normal, le bleu s'élimine par le tube contourné et ne passe pas par le glomérule. Mais en est-il de même à l'état pathologique ? Le glomérule, dans ses conditions ne peut-il pas devenir perméable au bleu ?

Nous l'ignorons totalement, et c'est là une première objection.

De plus, seconde objection, il n'existe pas de lésions rénale, qui soient exclusivement localisées au glomérule ou au tube contourné. Il est donc illusoire de chercher une méthode qui permette de diagnostiquer et de spécifier une lésion de l'un à l'exclusion de l'autre.

La méthode d'appréciation de la perméabilité rénale par l'étude de l'élimination provoquée du bleu de méthylène n'a donc, dans l'état actuel de nos connaissances, qu'une valeur restreinte et même très discutable.

CONCLUSIONS

- I. — Lorsqu'on introduit dans l'organisme d'un animal vivant une matière colorante telle que l'indigosulfate de soude, le carmin, les bleus de toluidine ou de méthylène, le rouge neutre, on retrouve après un temps variable la matière colorante dans les canalicules urinaires où elle siège, soit dans le tiers interne des cellules du tube contourné, soit dans la lumière du canalicule, en un point quelconque. Jamais, en se plaçant dans des conditions telles que l'injection n'ait pas causé de vulnération sensible, on n'a retrouvé la matière colorante dans la cavité de la capsule de Bowmann. Les quelques cas dans lesquels on l'y a observée (sauf peut-être pour le cas particulier du carmin ammoniacal) relèvent de conditions pathologiques
- II. — Lorsqu'on fait agir « in vitro » les matières colorantes, telles que les bleus de méthylène ou de toluidine, le rouge neutre, sur l'épithélium des tubuli contorti, on constate l'absorption de la couleur par les cellules et sa localisation dans le tiers interne de celles-ci sous forme de corpuscules colorés.

III. — L'épithélium du tubulus contortus, celui de la branche ascendante de l'anse de Henle et de la pièce intermédiaire de Schweigger-Seidel, dans les conditions où l'on s'est placé jusqu'à présent, montrent seuls des enclaves fixant les matières colorantes, à l'exclusion de tous les autres segments du tube urinaire.

Tels sont les faits. L'analyse des expériences permet de tirer de ces faits les conclusions suivantes :

IV. — *Lieu d'élimination.* — Toutes les couleurs utilisées jusqu'à présent sont électivement éliminées par le rein, d'abord et principalement au niveau du tube contourné, accessoirement, chez les mammifères, au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henle et de la pièce intermédiaire de Schweigger-Seidel.

Il est extrêmement douteux que ces mêmes matières colorantes soient en même temps éliminées au niveau du glomérule. On n'en possède aucune preuve.

V. — *Accumulation.* — Le phénomène de l'accumulation dans la cellule est indiscutable. La matière colorante, très diluée dans le sang, est sélectionnée, intussusceptée, puis concentrée dans la cellule, successivement avant d'être en fin de compte éliminée.

Les agents de l'accumulation, ou condensateurs de GURWITSCH, sont des formations intra-

cytoplasmiques qui ne s'excrètent pas avec les matériaux qu'ils ont fixés. Ils sont de diverse nature (grains de ségrégation, vacuoles lipoides, vacuoles salines, etc.) et varient beaucoup suivant les espèces animales et les modes ou phases du fonctionnement.

Nos propres expériences (action du rouge neutre sur le rein des ophidiens) contredisent l'opinion de GURWITSCH, d'après laquelle les vacuoles lipoides serviraient de condensateurs notamment pour les matières colorantes.

VI. — *Excrétion exocellulaire.* — Elle se fait par exosmose à travers la cuticule striée et, en aucun cas, par effraction de celle-ci.

L'accumulation des matériaux urinaires et leur excrétion exocellulaire sont des *phénomènes successifs*. Il en résulte que tous les tubes d'un même rein fonctionnant individuellement et alternativement, tous ne sont pas, dans une même région, au même stade histophysiologique de leur fonctionnalité.

VII. — Les matières colorantes excrétées sont emportées par le courant liquide issu du glomérule et on peut les retrouver dans la lumière des différents tubes, à des distances variables plus ou moins éloignées de leur lieu d'excrétion.

VIII. — Comme toutes les autres couleurs expérimentées, le bleu de méthylène s'élimine en majeure par-

tie et *peut-être* exclusivement par les tubes contournés.

L'épreuve du bleu de méthylène donne incontestablement des indications cliniques sur la perméabilité rénale, mais ces indications cliniques manquent de précision, par suite du nombre considérable de facteurs, dont plusieurs extra-rénaux, susceptibles de faire varier la marche de l'élimination.

La possibilité d'une élimination du bleu de méthylène par des glomérules malades et le caractère toujours complexe du processus histologique des néphrites ne permettent pas de tirer de l'épreuve du bleu de méthylène des conclusions fermes sur la nature des lésions rénales.

VU :

Le Président de la Thèse,

RENAUT.

VU :

Le Doyen,

LORTET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 19 novembre 1903.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

G. COMPAYRÉ.

INDICATIONS BIBLIOGRAPHIQUES

- ACHARD, C. et CASTAIGNE, J. (1897). — Diagnostic de la perméabilité rénale. *Bull. et Mém. de la Soc. méd. des hôpitaux de Paris*, 30 avril 1897, p. 637.
- ACHARD, C. et CASTAIGNE, J. (1900). — L'examen clinique des fonctions rénales par l'élimination provoquée. *Monographies cliniques* du Dr Critzmann, n° 23. Masson, éd., Paris.
- ARNOLD, J. (1902). — Ueber Plasmosomen und Granula der Nierenepithelien. *Virchow's Archiv f. path. Anat.*, CLXIV, p. 1-17.
- ARNOLD, J. (1902). — Ueber vitale und supravitale Granulafärbung der Nierenepithelien. *Anat. Anzeiger*, XXI, n° 13, p. 417-425.
- BLUMBERG, J. (1889). — *Inaug. Diss.* Dorpat.
- CASTAIGNE, J. (1900). — Épreuve du bleu de méthylène et perméabilité rénale. *Th. de Paris*, 1899-1900, 176 p.
- CHRONOSZCZEWSKY, N. (1864). — Zur Anatomie der Nieren. *Virchow's Arch. f. path. Anat.*, XXXI, p. 153-199.
- GALEOTTI, G. (1894). — Ricerche sulla colorabilità delle cellule viventi. *Zeitsch. f. wiss. Mikrosk.*, XI, p. 172-207.
- GRÜTZNER, P. (1881). — Zur Physiologie der Harnsecretion. *Pflüger's Arch. f. d. gesammte Physiol.*, XXIV, p. 441.
- GURWITSCH (1902). — Zur Physiologie und Morphologie der Nierenthätigkeit. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Phys.*, XCI, p. 71-118.

- HALSEY, J.-T. (1901). — Studies in diuresis. *Proc. of the Amer. physiol. Soc.* — 14th. ann. meet. Chicago. — In *Amer. Journ. of Physiol.*, VI, 1902.
- HEIDENHAIN, R. (1874). — Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Niere. *Arch. f. Mikr. Anat.*, x, p. 1-50.
- HEIDENHAIN, R. u. NEISSER (1874). — Versuche über den Vorgang der Harnabsonderung. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.*, IX, p. 1-27.
- HENSCHEN, S. (1879). — Om indigosvafvelsyradt Natron Afsondring i Nzurarne Experimentel Undersökung öfver Urinsekretion Mekanism under fysiologiska och pathologiska Forhaananden. *Akademisk afhandling*, Stockholm.
- JACOBY et SOBERIANSKY (1892). — *Arch. f. exper. Path. und Pharmak.*, XXIX, p. 25.
- KUHN, H. (1890). — Notiz über vitale Reaction der Zellgranula nach subcutaner Methylenblau injection. *Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abtheil.*
- LÉPINE, R. (1898). — Sur la perméabilité rénale. *Lyon médical*, 20 février 1898.
- LILLIE, R.-S. (1902). — On the oxydative properties of the Cell Nucleus. *Amer. Journ. of Physiol.*, VII, p. 411.
- MARÈS, F. (1885). — Beobacht. über die Ausscheidung des indigschwefelsauren Natrons. *Sitz. d. Wiener Akad.*, XCI, p. 257-270.
- MULLER (1899). — Ueber die Ausscheidung des Methylenblau durch die Nieren. *Deutsches Archiv. f. klin. Med.*, LXIII, p. 130.
- NUSSBAUM, M. (1878). — Ueber die secretion der Niere. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Phys.*, XVI, p. 139-142.
- NUSSBAUM, M. (1878). — Fortges. Unters. über die Secretion der Niere. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Phys.*, XVII, p. 580-591.

- NUSSBAUM, M. (1886). — Ueber den Bau und die Thätigkeit der Drüsen. V) Zur Kenntniss der Nierenorgan. *Arch. f. Mikr. Anat.* XXVII, p. 442-480.
- OVERTON, E. (1899). — Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. *Pringsheim's Jahresbericht f. wiss. Botanik* XXXIV.
- PAUTINSKI, K. (1880). — Ueber die Abscheidung der Indigschwefelsauren Natrons durch die Nieren unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Virchow's Arch. f. path. Anat.*, LXXIX, p. 393.
- REGAUD, Cl. et POLICARD, A. (1901). — Note histologique sur la sécrétion rénale. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 28 décembre 1901.
- REGAUD, Cl. et POLICARD, A. (1903). — Sur l'alternance fonctionnelle et sur les phénomènes histologiques de la sécrétion dans le deuxième segment du tube urinaire, chez les serpents. *Compte rendu des séances de la Société de biologie*, 4 juillet 1903.
- REGAUD, Cl. et POLICARD, A. (1903). — Recherches sur la structure du rein de quelques ophidiens. *Archives d'anatomie microscopique*. (Sous presse.)
- REYNAUD, G. et OLMER, D. (1889). — Valeur clinique de l'épreuve du bleu de méthylène dans 343 observations inédites. *Marseille médical*, octobre 1889.
- RIBBERT, H. (1896). — Untersuchungen über die normale und pathologische Physiologie und Anatomie der Niere. *Bibl. Med.*, 35 p. Fisher u. Co, édit., Cassel.
- SCHMIDT (1891). — Zur Physiologie der Niere. Ueber den Ort und Vorgang der Carminabscheidung. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Phys.*, XLVIII, p. 34-61, 1 planche.
- SCHULTZE, O. (1887). — Die vitale Methylenblaureaktion der Zellgranula. *Anat. Anzeiger*, II, p. 684-688.

SOBERIANSKI (W. von) (1898). — Ueber die Nieren function und die Wirkungsweise des Diuretica. *Arch. f. exper. Pathol. und Pharmak.*, xxxv, p. 144-180.

SOBERIANSKY (W. von). (1898). — Weitere Untersuchungen über die Thätigkeit der Nieren (en polonais) *Przegląd Lekarski*. Krakau.

WITTICH (von) (1875). — Beiträge zur Physiologie der Niere. *Arch. f. Mikr. Anat.*, xi, p. 75-93.

